Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie
der Freien Universität Berlin
Leiter: Professor Dr. med. Helmut Hahn

Therapeutische Wirkung von nativem IgG und $F(ab)_2$-Fragmenten bei der Staphylokokken-Infektion der Maus

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Benedikt Matthias Winkler
aus Bad Wimpfen
1985

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549614_0017

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie
der Freien Universität Berlin

Leiter: Professor Dr. med. Helmut Hahn

Therapeutische Wirkung von nativem IgG und $F(ab)_2$-Fragmenten bei der Staphylokokken-Infektion der Maus

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Benedikt Matthias Winkler
aus Bad Wimpfen

Referent: Prof. Dr. med. Helmut Hahn

Korreferent: Prof. Dr. K.-E. Gillert

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 11.9.1985

INHALT

1.	Einleitung	4
2.	Immunitäts- und Resistenzfaktoren	5
3.	Immunsubstitution	13
4.	Fragestellung	24
5.	Material und Methoden	26
6.	Ergebnisse	29
7.	Diskussion	49
8.	Zusammenfassung	60
9.	Literaturverzeichnis	61

1. EINLEITUNG

Der menschliche Organismus steht in dauerndem Kontakt mit pathogenen und fakultativ pathogenen Mikroorganismen. Die Widerstandskraft gegen eine Infektion durch einen Mikroorganismus beruht auf zwei verschiedenen Systemen. Das eine wird mit dem Begriff Resistenz, das andere mit Immunität umschrieben.

Unter Resistenz versteht man angeborene Abwehrfaktoren, die unspezifisch wirksam werden. Immunitätsfaktoren sind erworben, d.h. sie werden erst nach Kontakt mit einem Antigen gebildet und reagieren spezifisch nur mit diesem Antigen.

Zu den Resistenzfaktoren gehören polymorphkernige Granulozyten (PMN), mononukleäre Phagozyten und das Komplementsystem. Die Immunität beruht auf T- und B-Lymphozyten bzw. Immunglobulinen. Somit besitzen beide Systeme humorale und zelluläre Bestandteile.

Diese einzelnen Faktoren wirken nicht getrennt, sondern in enger Kooperation. Dabei kommt den Immunitätsfaktoren eine Steuerungs- und Erkennungsfunktion, den Resistenzfaktoren diejenige von Ausführungs- und Amplifikationsfaktoren zu.

2. IMMUNITÄTS- UND RESISTENZFAKTOREN

T- und B-Lymphozyten

Eine immunologische Antwort wird ausgelöst durch Kontakt eines Antigens mit immunologisch kompetenten Lymphozyten, die in der Milz oder den Lymphknoten lokalisiert sind. Lymphozyten entstehen aus einer gemeinsamen Stammzelle im Knochenmark und erhalten ihre immunologische Kompetenz durch einen Reifungsvorgang. Je nachdem, ob diese Reifung im Thymus oder dem Bursaäquivalent - bei Vögeln ist es die Bursa fabricii, beim Säugetier ist die anatomische Zuordnung nicht sicher bekannt - stattfindet, entstehen kompetente T- oder B-Lymphozyten.

T-Zellen sind keine einheitliche Gruppe, sondern es existieren verschiedene T-Zell-Subpopulationen. Ein Typ von T-Zelle, auch zytotoxische T-Zelle genannt, ist nach Sensibilisierung durch ein Antigen zur spezifischen direkten Zytolyse der entsprechenden Fremdzelle befähigt. Der molekulare Mechanismus dieser Reaktion ist noch nicht sicher bekannt. Vermutlich kommt es zu einem direkten Kontakt zwischen der zytotoxischen Effektorzelle und der Zielzelle.
Zusätzlich sind Lymphozyten nach unspezifischer Stimulierung durch Mitogene oder nach spezifischer Antigenstimulierung zur Produktion sog. Lymphokine befähigt. Lymphokine fördern die Eliminierung einer Fremdzelle durch Granulombildung und Aktivierung der Makrophagen. Besonders wichtig sind T-Lymphozyten und aktivierte, granulombildende Makrophagen bei der Abwehr von fakultativ intrazellulären Bakterien, wie Mykobakterien, Brucellen und Listerien. Dabei kommt es zu einer Immunreaktion vom verzögerten Typ. Die dabei beteiligten T-Lymphozyten reagieren als Zelle ohne Beteiligung von Antikörper mit Anti-

gen. Lymphokine werden freigesetzt und bewirken Granulombildung und Makrophagenaktivierung.

B-Lymphozyten wandeln sich nach Induktion einer Immunantwort in Plasmazellen um, die zur Produktion von Antikörpern befähigt sind. Verschiedene Experimente (35) haben gezeigt, daß B-Lymphozyten sich nicht autonom in Plasmazellen umwandeln, sondern die Unterstützung von Helferzellen, einer Subpopulation der T-Zellen, benötigen. Nur in Ausnahmefällen (z.B. Immunantwort gegen Polysaccharide) ist die B-Zell-Antwort von T-Zellen unabhängig. Limitiert wird die Immunantwort durch Suppressorzellen, die ebenfalls eine Subpopulation der T-Zellen darstellen.

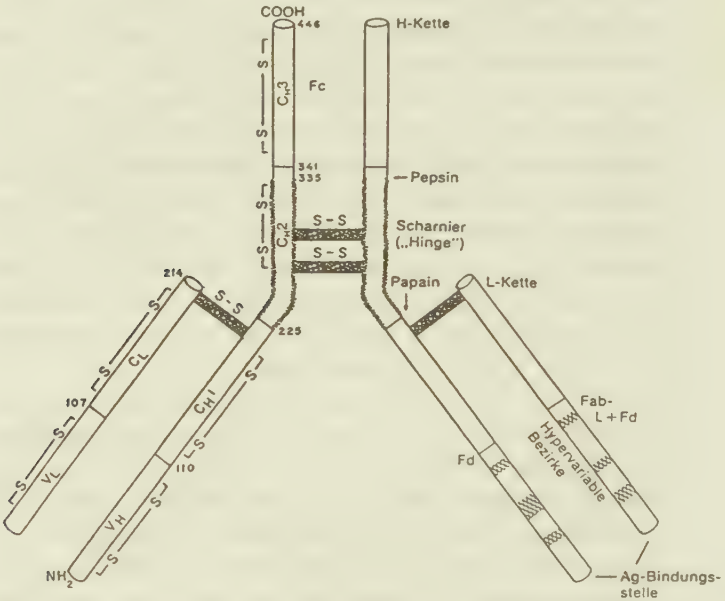
Antikörper

Antikörper sind die Träger der humoralen Immunität und treten in fünf verschiedenen Klassen auf, die sich hinsichtlich ihrer Funktion und Molekülstruktur unterscheiden: IgG, IgM, IgA, IgD und IgE. Über die Funktion von IgD ist wenig bekannt. IgA ist der Hauptträger der Abwehr in Sekreten und auf Schleimhäuten. Durch IgE werden anaphylaktische Reaktionen, wie Heuschnupfen, Urticaria und anaphylaktischer Schock, eingeleitet. IgM ist ein Antikörper der ersten Abwehrphase mit besonderer Fähigkeit zur Agglutination und Komplementaktivierung.
IgG, das 75% aller Immunglobuline im Serum darstellt, kommt in vier verschiedenen Subklassen vor, die sich hinsichtlich ihrer biologischen Aktivität unterscheiden. 65% der im Serum befindlichen IgG-Moleküle bestehen aus der IgG-Subklasse 1, 23% aus Subklasse IgG 2, 8% aus der Subklasse IgG 3 und 4% aus der Subklasse IgG 4. Da IgG

die zentrale Rolle bei der Immunantwort spielt, soll im folgenden seine Struktur und Funktion näher beschrieben werden.

Ein Antikörper der IgG-Klasse setzt sich aus vier Polypeptidketten zusammen (Abbildung 1): Zwei längeren gleich schweren, (abgeleitet von "heavy chain") sogenannten H-Ketten, und zwei kurzen, sogenannten leichten oder L-Ketten. Diese vier Ketten sind über Disulfidbrücken miteinander verbunden. Die H-Ketten sind durch zwei Brücken verbunden, und jeweils eine Brücke besteht zwischen einer H- und einer L-Kette. Es entsteht ein Y-förmiges Proteinmolekül, dessen Arme durch je eine leichte und einen Teil einer schweren Kette gebildet werden. Aufgrund der Anordnung der Aminosäuren nennt man die Arme auch N-terminales und den Stamm C-terminales Ende.
Da die Bindung des Antigens an die Arme des Antikörpermoleküls erfolgt, wird dieser Teil des Moleküls Fab-Stück genannt (von "fragment antigen binding"). Der Stamm des Moleküls heißt Fc-Stück (von "fragment crystalline", da es bei der Ausfällung in kristallisierter Form entsteht).
Durch Schleifenbildung innerhalb des Antikörpermoleküls entstehen wiederkehrende Strukturelemente, die einen ähnlichen räumlichen Aufbau haben und Domänen genannt werden. Die schweren und die leichten Ketten besitzen je eine variable Domäne (VH und VL), die sich im Bereich der Arme des Antikörpermoleküls gegenüberliegen und durch die große Variabilität ihrer Aminosäuresequenz zur spezifischen Erkennung und Bindung eines Antigens befähigt sind.
Neben diesen variablen Domänen gibt es konstante Domänen, die innerhalb ihrer Immunglobulinklasse strukturell weitgehend gleich sind und die allgemeinen biologischen Eigenschaften des Antikörpers einer Klasse bestimmen. Die schweren Ketten enthalten drei konstante Domänen (CH1-

CH3), die leichten Ketten weisen eine konstante Domäne auf (CL). Die konstanten Domänen CH2 und CH3 sind auf dem Fc-Stück lokalisiert und für die Effektorfunktion des Immunglobulins verantwortlich.



Ein IgG-Molekül
(IgG1)

Abbildung 1: Modell eines IgG-Moleküls

Durch die spezifische Bindung eines Antigens an das Fab-Stück erfahren die konstanten Domänen eine Änderung ihrer räumlichen Struktur und eine Aktivierung ihrer Funktionen. Nach dieser Aktivierung ist der Antikörper, der ein Antigen spezifisch gebunden hat, befähigt, mit den übrigen Abwehrfaktoren in Kontakt zu treten und unspezifische Effektorfunktionen einzuleiten oder zu vermitteln, die zu einer Eliminierung des Antigens führen.

Eine der wichtigsten Effektorfunktionen ist die Aktivierung des Komplementsystems, die zur Zellyse und zur Entstehung einer Reihe von physiologisch aktiven Produkten führt. Die initiale Bindung der Komplementkomponente C1 erfolgt an die CH2-Domäne (36).
Über einen alternativen Weg können auch $F(ab)_2$- Fragmente das Komplementsystem aktivieren (46). Nach Menzel et al. (30) bewirkt eine Aktivierung über den alternativen Weg jedoch keine Steigerung der Phagozytose von E. coli durch PMN.
Die Fähigkeit der IgG-Moleküle, nach Bindung eines Antigens mit den spezifischen Zellmembranrezeptoren auf Granulozyten und Makrophagen zu reagieren und damit das Antigen an die Phagozyten zu binden, ist in der CH2- und CH3-Domäne lokalisiert (32).
Es existiert ein antikörperabhängiger zytotoxischer Mechanismus durch nicht sensibilisierte Lymphozyten, der antikörper-vermittelte zelluläre Zytotoxizität oder antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC) genannt wird (33). Nach Butterworth et al. (6) spielt die ADCC eine wichtige Rolle bei der Abwehr von Infektionen.

MacLennan (29) prägte für die beteiligte Lymphozytenzelle, die thymusunabhängig ist, den Begriff "cytotoxic B-cell". Der Kontakt zwischen der Lymphozytenzelle, die Fc-Rezeptoren trägt, und der Zielzelle wird durch die CH2- und CH3-Domäne des Antikörpers hergestellt.

Neben den genannten Effektorfunktionen wird auch der Katabolismus des Antikörpers durch eine konstante Domäne gesteuert. Die Halbwertszeit des intakten IgG-Moleküls beträgt ca. 21 Tage, die des $F(ab)_2$-Fragmentes nur 2-4 Tage.

Phagozyten

Es gibt zwei Klassen von Phagozyten, die sich aus zwei verschiedenen Stammzellen des Knochenmarks entwickeln. Die eine Klasse heißt neutrophile Granulozyten. Sie zirkulieren im Blut und haben die Fähigkeit, auf chemotaktische Reize ins Gewebe auszuwandern. Die andere Gruppe sind die mononukleären Phagozyten. Diese halten sich nur ca. einen Tag lang als Monozyten im Blut auf. Dann wandern sie ins Gewebe aus und differenzieren sich dort in Histiozyten, Kupffersche Sternzellen, Alveolar-, Haut- und Lymphknotenmakrophagen.

Bei der Abwehr einer bakteriellen Infektion kommt den Phagozyten eine zentrale Funktion zu, da Komplement und Antikörper für sich allein nur eine geringe bakterizide Wirkung haben (57). Dringen Bakterien durch die Haut oder Schleimhaut in den Organismus ein, so stellen sich ihnen, sei es in der Blutbahn oder im Gewebe, als erste Barriere Phagozyten entgegen. Diese besitzen die Fähigkeit, körpereigene und körperfremde Zellen zu unterscheiden und die als körperfremd erkannten Zellen in sich aufzunehmen. Dieser Vorgang wird Phagozytose genannt. Extrazelluläre Bakterien werden nach Verschmelzung der Phagozytose-Vakuole mit den Lysosomen durch antibakteriell wirksame Substanzen, wie H-Ionen, Halogene und Wasserstoffsuperoxyd, abgetötet und durch Enzyme anschließend verdaut. In vielen Fällen erfolgt bereits durch diesen Vorgang eine vollständige Vernichtung der Bakterien.

Allerdings haben viele Bakterien Mechanismen entwickelt, um sich einer Phagozytose zu entziehen. Ein wichtiger antiphagozytärer Schutz ist die Bakterienkapsel. Ein großer Teil der häufigsten Infektionserreger ist zur Kapselbildung befähigt: S. pneumoniae, S. aureus, E. coli, H. influenzae, Klebsiella pneumoniae, Salmonella typhi und N. meningitidis (Literaturübersicht bei 22).

Die Phagozytose bekapselter Bakterien ist nur nach Aktivierung des humoralen Immunsystems und des Komplementsystems möglich. Die dabei gebildeten Antikörper und die C3b-Komponente des Komplementsystems heften sich an die Oberfläche des Bakteriums. Zurückgehend auf eine 1903 erschienene Arbeit von Wright und Douglas (54) wird dieser Vorgang Opsonisation genannt. An der Oberfläche der Phagozyten, so nachgewiesen für PMN, Monozyten und peritoneale Makrophagen, finden sich Rezeptoren für das Fc-Stück des IgG und für die C3b-Komponente. Mit Hilfe dieser Rezeptoren wird das opsonisierte Bakterium fest an den Phagozyten gebunden und seine Phagozytose ermöglicht.

Stendahl et al. (47) fanden, daß IgG in einer Mindestkonzentration von 7700 mol/Bakterium die Phagozytose von bekapselten S-Formen von Salmonellenstämmen durch PMN steigert. Von $F(ab)_2$-Fragment war eine fünffach höhere Konzentration erforderlich. Durch die Anlagerung von IgG-Molekülen an das Bakterium werde die physiochemische Struktur ihrer Oberfläche im Sinne einer stärkeren Hydrophobie verändert, was für die Phagozytose unerläßlich sei. Dieser steigernde Effekt finde sich nicht bei den unbekapselten R-Formen von S. typhi.

Nach Menzel et al. (30) hat eine Opsonisierung durch IgG eine zehnfach höhere Phagozytose von E. coli durch PMN zur Folge. IgM hat allein keine opsonisierende Wirkung. Im Zusammenwirken mit Komplement ist IgM hingegen wirksamer als IgG. Die intrazelluläre Abtötung der Bakterien wird durch Komplement deutlich gesteigert. Neben der Opsonisierung erfolgt auch eine direkte Aktivierung des Enzymsystems im Phagozyten durch C3a und C5b.

Da die Kooperation von Phagozyten und Antikörpern durch das Fc-Stück des Antikörpers ermöglicht wird, erscheint es fraglich, ob auch $F(ab)_2$-Fragmente zu einer Steige-

rung der Phagozytose führen. Lindquist et al. (26) untersuchten menschliche Granulozyten vor und nach intravenöser Gabe eines $F(ab)_2$-Präparates und wiesen eine Steigerung der Nitroblau-Tetrazolium-Reduktionsfähigkeit und der bakteriziden Kapazität der Granulozyten durch $F(ab)_2$ nach. Als Wirkungsmechanismus diskutierten sie eine unspezifische Bindung des $F(ab)_2$-Fragmentes an die Granulozytenoberfläche. Zusätzlich könnten Immunkomplexe des $F(ab)_2$-Fragmentes und eines Anti-IgG-Antikörpers das Komplementsystem aktivieren und über diesen Weg die Phagozytose steigern.

3. IMMUNSUBSTITUTIONEN

Unter Immunsubstitution oder passiver Immuntherapie versteht man die Übertragung einer Immunkomponente von einem immunen Spender auf einen nicht immunen Empfänger. Von praktischer Bedeutung ist derzeit fast ausschließlich die Immunisierung mit Serumantikörpern. Im folgenden wird auf die unterschiedlichen Präparate eingegangen.

Xenogene Seren

1890 haben Behring und Kitasato (4) in der Deutschen Medizinischen Wochenschrift eine Arbeit veröffentlicht mit dem Titel: "Über das Zustandekommen der Diphtherieimmunität und Tetanusimmunität bei Thieren." Die nachfolgende Produktion eines Anti-Diphtherie-Serums vom Schaf war der Anfang der passiven Immuntherapie mit einem heterologen Antikörper. Wegen der Gefahr der Sensibilisierung beschränkt sich der Einsatz xenogener Seren auf toxische Erkrankungen: Diphtherie, Tollwut, Gasbrand und Schlangenbisse.

Standardgammaglobulin, Hyperimmunserum

Cohn und Mitarbeitern gelang es 1944 als ersten, Gammaglobuline in größeren Mengen aus menschlichem Serum abzutrennen und zu konzentrieren. Bis heute ist das nach dem klassischen Alkoholfraktionierungsverfahren gewonnene sog. Standardgammaglobulin (Cohn Fraktion II) die Basis der Immuntherapie mit homologen Antikörpern. Seine

Herstellung erfolgt aus Sammelplasma, wobei jede Charge aus Blut von mindestens tausend verschiedenen Spendern hergestellt ist. Jede Charge enthält somit einen repräsentativen Querschnitt durch das Antikörperspektrum der Bevölkerung. Dazu gehören einmal Antikörper gegen weitverbreitete Erreger (z.B. Masern, Röteln, Streptokokken, Staphylokokken und Hepatitis A) und andererseits Antikörper, die auf eine aktive Immunisierung zurückzuführen sind (z.B. Diphtherie, Poliomyelitis und Tetanus). Die vorhandenen Antikörper gehören fast ausschließlich der IgG-Klasse an.
Neben diesen Standardpräparaten werden spezielle Immunglobuline, auch Hyperimmunglobuline genannt, von ausgewählten Spendern - es handelt sich um Rekonvaleszenten oder geimpfte Personen - gewonnen. Sie enthalten Antikörper bestimmter Spezifität in einer vorgeschriebenen Mindestkonzentration, z.B. Tetanushyperimmunglobulin und Rötelnhyperimmunglobulin.

Sowohl die Standardgammaglobuline als auch die Hyperimmunglobuline dürfen nur intramuskulär verabreicht werden. Die Injektion größerer Mengen führt zu schmerzhaften lokalen Reizerscheinungen. Da die Resorption des Antikörpers langsam erfolgt und bereits am Injektionsort eine proteolytische Spaltung stattfindet, können nur niedrige Serumspiegel erreicht werden.
Eine intravenöse Gabe kann hauptsächlich bei Individuen mit Antikörpermangelsyndrom zu Unverträglichkeitsreaktionen führen, wie Flush, Angstgefühl, Kopfschmerz, Druckgefühl auf der Brust, Knochenschmerzen, passagere Sehstörungen, Dyspnoe, Erbrechen, Übelkeit, Fieber und in schweren Fällen Kreislaufkollaps mit Bewußtlosigkeit. Es ist nicht geklärt, warum gerade Individuen mit einem Immundefekt zu derartigen anaphylaktoiden Reaktionen neigen. Da solche Unverträglichkeitsreaktionen mit einer Verminderung der Komplementaktivität im Serum der Patienten ein-

hergehen, spricht man auch von antikomplementärer Aktivität der Standardgammaglobuline.
Nach Barandun et al. (2) kann die antikomplementäre Aktivität dadurch erklärt werden, daß es durch den Fraktionierungsprozeß bei der Herstellung des Standardglobulins zur Denaturierung und Aggregation der Immunglobuline kommt. Die entstandenen hochpolymeren Ig-Aggregate, die bis zu 20% des Gesamtproteins ausmachen, zeigen eine verminderte Flexibilität ihrer Ketten, wodurch die Komplementbindungsstelle freigelegt und eine unspezifische Komplement-Aktivierung ermöglicht wird. Die dabei entstehenden Komplementkomponenten sind für die anaphylaktoiden Reaktionen verantwortlich.

Intravenös verträgliche Immunglobuline

Um die geschilderten Nachteile der intramuskulären Immunsubstituion durch Standardgammaglobulin zu vermeiden, wurden in den letzten zwanzig Jahren intravenös applizierbare Immunglobuline entwickelt, indem durch Modifizierung oder Abspaltung des Fc-Stücks die antikomplementären Eigenschaften des Standardglobulins beseitigt oder durch neue Aufbearbeitungsmethoden ihre Entstehung verhindert wurden.

Folgende Methoden werden heute angewendet:

1. Ausfällen der IgG-Aggregate durch Polyäthylenglykol (PEG) und Stabilisierung der monomeren Ig-Anteile durch Hydroxyäthylstärke (HES).
   Die Elimination denaturierter monomerer IgG-Moleküle gelingt durch diese Methode nicht vollständig, so daß es beim Lagern wieder zu einer antikomplementären Aktivität kommen kann.

2. Proteolytische Abspaltung oder chemische Blockade des komplementaktivierenden Fc-Stücks

   a. Enzymatische Spaltung mit Pepsin
   Durch Pepsin erfolgt die Abspaltung des Fc-Stücks hinter den Disulfidbrücken, welche die beiden schweren Ketten zusammenhalten. Als therapeutisch wirksame Substanz entsteht dabei das bivalente $F(ab)_2$-Molekül, das hinsichtlich der Antigenerkennung und Bindung voll funktionsfähig ist. Die auf dem Fc-Stück lokalisierten Effektorfunktionen gehen durch die Abspaltung verloren. Die Halbwertzeit des Fragmentes ist mit 2-3 Tagen deutlich kürzer als die des ungespaltenen Moleküls.

   b. Enzymatische Spaltung durch Plasmin
   Durch Plasmin erfolgt die Spaltung des Immunglobulins zwischen den F(ab)-Armen und den Disulfidbrücken der schweren Ketten. Auf diese Weise entstehen zwei monovalente F(ab)-Fragmente und das Fc-Stück. Die IgG-Subklassen IgG 2 und IgG 4 sind weitgehend plasminresistent und liegen im Präparat ungespalten vor. Das F(ab)-Fragment ist zwar zur spezifischen Bindung an ein Antigen befähigt, nicht jedoch zur Agglutination oder Präzipitation. Zudem wird es bereits nach wenigen Stunden aus dem Körper eliminiert.
   Für die therapeutische Wirksamkeit sind die plasminresistenten, d.h. ungespaltenen IgG-Moleküle, verantwortlich. Da sie ein intaktes Fc-Stück besitzen, sind sie zu allen Effektorfunktionen befähigt. Eine antikomplementäre Aktivität tritt nicht auf.

c. Behandlung mit ß-Propiolacton

Durch ß-Propiolacton kommt es zu einer Alkylierung von Histidyl- und einer Azylierung von Lysylresten in der Fc-Region des Antikörpers. Das entstandene modifizierte Molekül zeigt keine antikomplementären Eigenschaften mehr, die spezifische Komplementaktivierung soll aber uneingeschränkt erhalten sein.

d. S-Sulfonierung

Durch die Behandlung mit Sulfit- und Tetrathionat-Ionen werden die Disulfidbindungen zwischen den Ketten zu S-Sulfonatgruppen gespalten. Das Präparat soll eine niedrige antikomplementäre Aktivität aufweisen, ohne daß es zu einer Störung der Effektorfunktionen kommt.

e. Reduktion und Alkylierung

Bei diesem Verfahren werden die Disulfidbrücken zwischen den Ketten durch Dithiothreitol reduziert und anschließend mit Jodacetamid alkyliert. Der Zusammenhalt zwischen den Ketten wird durch nichtkovalente Bindungen aufrechterhalten. Nach dieser Behandlung weist das Antikörpermolekül keine antikomplementären Eigenschaften mehr auf.

f. Säurebehandlung

Durch Inkubation der Cohn Fraktion II bei pH 4,1 geht vermutlich durch eine chemische Modifizierung die antikomplementäre Aktivität verloren. Neben monomerem IgG enthält das Präparat noch kleinere Mengen von dimeren und polymeren IgG-Molekülen, die aber nicht befähigt sein sollen, Komplement zu aktivieren. Durch Zusatz von Pepsin wird das Präparat stabilisiert, so daß auch nach Lagerung keine antikomplementäre Aktivität mehr auftritt.

Indikationen zur passiven Immuntherapie

Eine passive Immunisierung ist dann angezeigt, wenn ein exponiertes oder bereits infiziertes Individuum über keinen ausreichenden humoralen Schutz verfügt und die zu erwartende Infektionskrankheit mit einem erheblichen Risiko verbunden ist. Ein mangelnder humoraler Schutz ist bei allen Individuen zu erwarten, die zum ersten Mal mit einem Erreger in Kontakt kommen, oder bei denen eine permanente oder vorübergehende Störung der Antikörperproduktion vorliegt.
Zunächst soll auf die Prophylaxe viraler und bakteriotoxischer Erkrankungen eingegangen werden. Da virusneutralisierende und antitoxische Antikörper im Gegensatz zu antibakteriellen bereits in niedriger Serumkonzentration wirksam sind, ist bei dieser Indikation eine intramuskuläre Injektion ausreichend. Bei Erregern, gegen die aufgrund der geringen Durchseuchung im polyvalenten Serum nur niedrige Antikörpertiter vorhanden sind, ist der Einsatz von spezifischen Hyperimmunglobulinen angezeigt.

Prophylaxe viraler und bakteriotoxischer Infektionen

a. Allgemein anerkannte Indikationen

Virus-Hepatitis A: Unbestritten ist die gute Schutzwirkung von Gammaglobulin bei der Typ-A-Virushepatitis. Aufgrund des hohen Durchseuchungsgrades sind im Standardglobulin hohe Antikörpertiter gewährleistet. Da viele Erwachsene immun sind, und der Infektionsverlauf in der Regel komplikationslos ist, sind prophylaktische Maßnahmen nur in besonderen Situationen angezeigt (2): Bei Individuen mit engem Hepatitiskontakt, wie z.B. in Haushalten, und bei besonders gefährdeten Kontaktpersonen, wie Kindern,

Schwangeren und solchen mit vorbestehender Leberschädigung. Meist wird eine Prophylaxe auch vor Reisen in subtropische oder tropische Gebiete durchgeführt.

Virus-Hepatitis B: Eine Infektion mit Hepatitis-B-Virus ist mit einem großen Risiko verbunden, da nur wenige Personen immun sind und bei einem Großteil der Erkrankten mit Komplikationen und Spätfolgen zu rechnen ist. Bei der geringen Durchseuchung ist ein Schutzeffekt nur mit spezifischem Hyperimmunglobulin gewährleistet. Da dieses Präparat nur in beschränkter Menge zur Verfügung steht, bleibt seine Anwendung auf folgende Hauptindikationen beschränkt (2):

- nach Infektion bei Krankenhaus- oder Laborpersonal mit hepatitis-B-antigenpositivem Material.
- nach Transfusion von hepatitis-B-antigenpositivem Blut.
- bei direkten Kontaktpersonen.

Tetanus: Zusammen mit der aktiven Impfung ist die Verabreichung von Tetanushyperimmunglobulin bei der Tetanusprophylaxe von Nichtgeimpften obligatorisch. Zur Therapie des manifesten Tetanus ist die intravenöse Gabe in hoher Dosierung angezeigt.

Tollwut: Hyperimmunglobulin wird bei tollwutverdächtigen Bißverletzungen simultan mit der aktiven Schutzimpfung immer verabreicht.

b. Spezielle Indikationen

Masern: Standardgammaglobulin enthält für die Prophylaxe genügend Antikörper. Die passive Immunisierung ist angezeigt bei "high-risk"-Patienten, wie bei Kindern unter zytostatischer oder immunsuppressiver Therapie, mit Zerebralschäden oder Immundefekten.

Varizellen: Die Gabe von Varizellen-Hyperimmunglobulin ist angezeigt bei Patienten mit Leukämie, mit Immundefekten oder unter immunsuppressiver/zytostatischer Therapie.

Röteln: Die Verabreichung eines Röteln-Hyperimmunglobulins bei Nichtschwangeren ist nur selten angezeigt, da die Erkrankung meist harmlos verläuft. Nichtimmune Schwangere in den ersten drei Monaten sollten nach Kontakt mit Rubeolen möglichst rasch geimpft werden, da nur innerhalb der ersten sechs Tage post infectionem eine Virämie und damit die folgenschwere Rötelnembryopathie verhindert werden kann.

c. Fragliche Indikationen

Mumps: Die Parotitis epidemica kann selbst mit Mumps-Hyperimmunglobulin nicht verhindert werden. Das Risiko einer begleitenden Orchitis, Oophoritis oder Pankreatitis kann aber gesenkt werden.

Pertussis: Das antibakterielle Pertussis-Hyperimmunglobulin hat keinen sicheren Schutzeffekt. Trotzdem wird der Einsatz für Prophylaxe und Therapie bei "high-risk"-Säuglingen und Kleinkindern empfohlen.

Prophylaxe und Therapie bakterieller Infektionen

Die Wirkung antibakterieller Antikörper beruht im wesentlichen auf einer Opsonisierung des Erregers. Die für die Opsonisierung notwendige Antikörpermenge ist höher als diejenige, welche zur Neutralisierung von Viren und Exotoxinen erforderlich ist. Zur Prophylaxe und besonders zur Therapie bakterieller Infekte ist daher die intravenöse Gabe von Immunglobulinen, durch die hohe Serumspiegel erreicht werden, der intramuskulären vorzuziehen. Es lassen sich drei Indikationsbereiche unterscheiden.

a. Primäres Antikörpermangelsyndrom (AMS)

Dieses seltene Krankheitsbild, das durch eine angeborene Störung der B-Zell-Funktion mit einem vollständigen oder selektiven Mangel der Immunglobuline und durch eine abnorme Anfälligkeit für rezidivierende akute und chronische bakterielle Infekte charakterisiert ist, ist die klassische Indikation für eine humorale Immunsubstitution. Durch regelmäßige Zuführung eines polyvalenten Immunglobulins lassen sich solche Patienten auch ohne Antibiotikaprophylaxe frei von akuten bakteriellen Infekten halten. Zur Therapie von Infekten ist die Kombination mit Antibiotika angezeigt. Die charakteristischen chronischen Infekte des Respirations- und Intestinaltraktes lassen sich durch Gammaglobuline kaum beeinflussen (2).
Besonders günstig sind die Erfolgsaussichten bei der Substitutionsbehandlung des transitorischen hypogammaglobulinämischen AMS der Säuglinge im 1. und 2. Trimenon, die mit einer ein- oder zweimaligen i.m. Gabe von Standardgammaglobulin erfolgt (31).

b. Sekundäres Antikörpermangelsyndrom

Häufiger als die primären sind die sekundären oder symptomatischen Antikörpermangelsyndrome, wie man sie bei Non-Hodgkin-Lymphomen einschließlich der Immunozytome und bei Patienten mit ausgeprägter kataboler Stoffwechsellage oder unter immunsuppressiver Therapie findet. Auch beim Nachweis einer deutlichen Erniedrigung der Serumkonzentration der Immunglobuline ist eine dauernde Substitutionstherapie nur selten angezeigt. Bei akuten interkurrenten Infekten kommen Gammaglobuline zusätzlich zu Antibiotika zum Einsatz. So reicht z.B. bei Leukämiepatienten zur Therapie akuter Infektionen die Gabe von Antibiotika nicht aus. Über therapeutische Erfolge bei gleichzeitiger Immunsubstitution hat Schuhmacher (40) berichtet. Neben der spezifischen Antikörperwirkung wird auch ein Synergismus zwischen Antikörper und Antibiotikum diskutiert (57).

c. Flankierende Therapie bakterieller Infektionen bei Patienten ohne Immundefekt

Aufgrund der positiven Erfahrungen bei primären und sekundären AMS wurden die Indikationen für die Immunsubstitution in immer größerem Umfang auf die Therapie akuter und chronischer Infektionen ohne nachgewiesene Störung der Antikörperproduktion ausgedehnt. Über therapeutische Erfolge liegen zahlreiche kasuistische Mitteilungen vor, so über den Einsatz bei hartnäckigen Bronchopneumonien (39), bei Pyelonephritiden (50), eitrigen Meningitiden (12, 53) und bei der bakteriellen Sepsis (27). Duswald et al. (8) konnten in einer kontrollierten Studie eine signifikante Senkung der postoperativen Infektionen

durch Gammaglobuline nachweisen. Eine Erklärung für den therapeutischen Erfolg scheint in der Tatsache zu liegen, daß die Gammaglobulinspiegel durch das Operations- und Narkosetrauma signifikant gesenkt werden. Trotz dieser positiven Berichte ist die Gammaglobulintherapie bei bakteriellen Infektionen umstritten geblieben (15).

4. FRAGESTELLUNG

Immer wieder wird der Arzt mit bakteriellen Infektionskrankheiten konfrontiert, bei denen die Gabe von Antibiotika keinen therapeutischen Erfolg hat. Man kann davon ausgehen, daß bei solchen Patienten ein Mißverhältnis von immunologischer Kapazität zu Ausmaß einer Infektion bzw. Virulenz der Erreger, also eine relative Mangelsituation vorliegt. Ausgehend von den positiven Erfahrungen beim AMS lag es nahe, mit der Zuführung von Immunglobulinen diese Mangelsituation auszugleichen.
Eingeschränkt werden die therapeutischen Möglichkeiten mit Immuglobulinen durch die Tatsache, daß bei der Abwehr bakterieller Infektionen der Phagozytose entscheidende Bedeutung zukommt und daß in einem polyvalenten Immunglobulinpräparat ein wirkungsvoller Antikörpertiter gegen ein bestimmtes bakterielles Antigen nicht gewährleistet ist. Die therapeutische Wirksamkeit von Immunglobulinfragmenten wird durch das Fehlen der Effektorfunktionen auf dem Fc-Stück zusätzlich in Frage gestellt.

Angesichts der ungesicherten therapeutischen Wirksamkeit hat man die hohen Kosten der Immunglobulintherapie zu berücksichtigen, die derzeit einen beträchtlichen Prozentsatz aller Medikamentenkosten im Krankenhaus darstellen. Die Grundlagen und Indikationen der Immunglobulintherapie bedürfen daher einer erneuten Überprüfung.

In der vorliegenden Arbeit wurde die therapeutische Wirkung von heterologem Hyperimmunserum bei der Staphylokokken-Infektion der Maus untersucht. Im ersten Teil wurde ein Infektionsmodell erstellt. Neben der Letalität wurde auch die Keimzahlentwicklung in den verschiedenen Organen bei der septischen und bei der protrahiert verlaufenden Infektion bestimmt.

Im zweiten Teil wurden auf der Basis dieses Infektionsmodells Schutzversuche mit nativem und enzymbehandeltem Anti-Staphylokokken-Hyperimmunserum vom Kaninchen durchgeführt. Folgende Fragen sollten beantwortet werden:

1. Senken Immunglobuline die Letalität bei der Staphylokokken-Infektion der Maus?
2. Haben Immunglobuline eine therapeutische Wirkung auf die extravasale Vermehrung von Bakterien?
3. Bestehen Unterschiede in der Wirksamkeit von nativem und enzymbehandeltem Immunglobulin?

5. MATERIAL UND METHODEN

a. Infektionsmodell

Versuchstiere: Versuchstiere waren Mäuse des NMRI-Auszuchtstammes beiderlei Geschlechts im Alter von 50 bis 70 Tagen aus eigener Zucht.

Keim: Staphylococcus aureus. Der Keim wurde aus dem Sputum eines Patienten isoliert und hatte folgende Eigenschaften: Koagulasepositiv, ß-hämolysierend.

Infektionsmaterial: Als Ausgangsmaterial dienten Übernachtkulturen in Bouillon, Bebrütungszeit 12 bis 14 Stunden bei 37°C.
Unter diesen Bedingungen ließ sich der Keimgehalt der Bouillonlösung grob voraussagen. Er lag zwischen 0,8 und $2x10^8$ Keimen pro ml. Die gewünschte Infektionsdosis (ID) wurde durch Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellt. Eine nachträgliche exakte Bestimmung der Infektionsdosis erfolgte durch Ausstreichen einer 0,1 ml-Probe auf Agarplatten nach Herstellung einer Verdünnungsreihe. Nach anschließender Bebrütung (14-20h) wurden die Platten ausgezählt (Plattenausstrichverfahren). Die Infektionsdosis wurde vor und nach Durchführung der Versuche bestimmt. Bei Differenzen wurde der Mittelwert berechnet.

Injektionsvolumen: 0,1 ml.

Infektionsweg: Intravenös durch eine Schwanzvene.

Keimzahlbestimmung: In unterschiedlichen Zeitabständen post infectionem wurde der Maus nach folgender Methode Blut entnommen: Zunächst erfolgte intravenöse Gabe von

200 IE Heparin zur Herabsetzung der Gerinnbarkeit des Blutes. Unter Äthernarkose wurde anschließend der Retroorbitalsinus mit einer Glaskanüle punktiert. Dabei ließen sich bis zu 0,5 ml Blut abtropfen. Anschließend wurde die Maus getötet.
Unter sterilen Bedingungen wurden folgende Organe entnommen: Herz, Leber, Lunge, Milz und Nieren. Das Herz wurde eröffnet und mit Kochsalzlösung gespült, um das Blut und die darin enthaltenen Keime zu entfernen. Die Organe wurden anschließend in jeweils 10 ml Kochsalzlösung homogenisiert.
Mit 0,1 ml dieses Homogenisats bzw. mit 0,1 ml Blut wurde eine Verdünnungsreihe hergestellt. Nach Ausstrich auf Blutplatten und deren Bebrütung ließ sich dann die Keimzahl bestimmen. Alle folgenden Angaben sind Keimzahlen pro Organ bzw. 0,1 ml Blut. Das Nierenpaar einer Maus wurde gemeinsam homogenisiert, und die angegebenen Keimzahlen beziehen sich auf beide Nieren.

Makroskopie: Es erfolgte eine makroskopische Beurteilung der Organe. Insbesondere wurde die Abszessbildung in den Nieren dokumentiert. Das Verhältnis Nieren mit Abszessbildung zur Gesamtzahl der untersuchten Nieren wird im folgenden in Prozentzahlen wiedergegeben.

b. Schutzversuche

Zusätzlich oder in Abänderung zum Vorhergehenden galt folgendes:

Versuchstiere: Um die Versuchsbedingungen möglichst konstant zu halten, wurden als Versuchstiere kommerziell erhältliche weibliche Inzuchtmäuse vom Stamm (B6D2) F1-7 verwendet. Sie waren zwischen 90 und 100 Tagen alt und hatten ein Gewicht zwischen 20 und 22 Gramm.

Infektionsmaterial: Um eine möglichst homogene Bakteriensuspension zu erhalten, wurden die Bakterien fünf Stunden bei 37°C in Bouillon bebrütet. Die Bakterien befinden sich zu diesem Zeitpunkt am Ende der logarithmischen Vermehrungsphase. Durch Probeinfektionen konnte festgestellt werden, daß die so hergestellten Suspensionen eine höhere Virulenz zeigten als zwölf Stunden lang bebrütete Kulturen.

Immunserum: Die Immunseren wurden von der Firma Behring zur Verfügung gestellt. Dazu wurden Kaninchen mit dem hier zur Infektion verwendeten Staphylokokkenstamm immunisiert. Aus dem so gewonnenen Hyperimmunserum wurde Immunglobulin G isoliert. Durch Pepsinspaltung wurde zusätzlich ein Serum mit $F(ab)_2$-Fragmenten hergestellt.

Infektion: Die Keimbelastung der Maus erfolgte mit einer LD_{50} oder einer LD_{100}. Substanzkontrollen erhielten zum Zeitpunkt der Infektion nur physiologische Kochsalzlösung.

Passive Immunisierung: Zur passiven Immunisierung wurden aus den beiden Immunseren in Zehnerstufen fünf Verdünnungen mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellt. Die Applikation erfolgte intravenös eine Stunde vor Infektion mit Bakterien. Das Injektionsvolumen betrug 0,1 ml. Infektionskontrollen erhielten zum Zeitpunkt der Immunisierung lediglich physiologische Kochsalzlösung.

Versuchsdauer: Die überlebenden Tiere wurden nach acht Tagen getötet und seziert, um die Abszessbildung in den Nieren zu untersuchen.

Tierzahlen: Behandlungsgruppe: 20 Tiere
Substanzkontrolle: 10 Tiere
Infektionskontrolle: 20 Tiere

6. ERGEBNISSE

Bestimmung der LD_{50}

5 Gruppen mit je 6 Mäusen wurden mit einer Bakteriensuspension und daraus hergestellten Verdünnungsstufen infiziert. Die Suspension enthielt $2x10^8$ Bakterien, die weiteren Infektionsdosen $2x10^7$, $2x10^6$, $2x10^5$ und $2x10^4$. Die Beobachtungsdauer war acht Tage. Die LD_{50} wurde nach der Methode von Reed und Muench berechnet (Darstellung in 23).

Tabelle 1: Letalität nach intravenöser Injektion von Staph. aureus in verschiedenen ID

ID	überlebende Mäuse	tote
$2x10^8$	0	6
$2x10^7$	0	6
$2x10^6$	1	5
$2x10^5$	5	1
$2x10^4$	6	0

Es ergab sich folgende LD_{50}: $6{,}2x10^5$.

Die bestimmte LD_{50} lag in einer Größenordnung, wie sie auch von anderen Untersuchern gefunden wurde (17, 18, 44). Der gewählte Bakterienstamm hatte sich somit als ausreichend virulent für die weiße Maus erwiesen.

Verlauf der Staphylokokken-Infektion bei der Maus und Keimzahlbestimmung in den Organen

In Versuch 2 wurden vier Gruppen mit je 45 Tieren mit folgenden Infektionsdosen infiziert: $2x10^7$, $4x10^6$, $8x10^5$ und $1,6x10^5$, entsprechend einer Verdünnung um jeweils 1/5. Im Abstand von 1h, 6h 1d, 2d, 3d, 4d, 5d, 7d und 8d wurden aus jeder Gruppe zwei oder drei Mäuse getötet und die Keimzahlen wie oben angegeben bestimmt.

In Abhängigkeit von der gewählten Infektionsdosis verlief die Infektion akut, subakut, protrahiert oder chronisch. Die ersten Krankheitssymptome traten einen Tag post infectionem auf. Allgemeinsymptome waren: Inaktivität, Gewichtsabnahme bis zur Kachexie, Exsikkose, struppiges Fell und Fieber. Schwerkranke Tiere zeigten eine charakteristische Hockstellung und nahmen keine Nahrung mehr zu sich. Eine Lähmung vornehmlich der hinteren Extremität zeigte eine Infektionsbeteiligung des ZNS an.

Bei einer Infektionsdosis von $2x10^7$ waren diese Allgemeinsymptome sehr deutlich ausgeprägt und entsprachen einem septischen Krankheitsbild. Zahlreiche Bakterien waren in allen Organen und im Blut nachweisbar (Tabelle 2a). Bei einer Letalität von 100% waren bereits nach 5 Tagen alle Mäuse gestorben. Regelmäßig fanden sich Abszesse in den Nieren, teilweise war es zu entzündlichen Adhäsionen und Verwachsungen mit den Nachbarorganen gekommen. In geringer Zahl fanden sich Abszesse auch im Herzen, vereinzelt auch auf Pleura und Peritoneum, in der Leber und subcutan.

Bei einer Reduktion der Infektionsdosis auf $4x10^6$ waren die Allgemeinsymptome weniger gravierend. Dennoch war bei einem etwas protrahierten Krankheitsverlauf die Leta-

lität 100%. In keiner der untersuchten Mäuse war das Blut keimfrei, d.h. es bestand regelmäßig ein septisches Krankheitsbild (Tabelle 2b). Ebenso fanden sich Abszesse in allen Nieren.

Bei einer Infektionsdosis von $8x10^5$ zeigte nur ein Teil der Tiere deutliche Allgemeinsymptome. Die Letalität lag gering unter 50%. In einer Maus ließen sich 8 Tage p.i. im Blut keine Bakterien nachweisen. Keines der untersuchten Organe war bakterienfrei (Tabelle 2c). Weiterhin waren Nierenabszesse in allen Mäusen, wenn auch zum Teil nur in einer Niere, nachweisbar.

Bei einer weiteren Reduktion der Infektionsdosis auf $1,6x\ 10^5$ waren, abgesehen von einer Ausnahme, Bakterien im Blut nur zwischen dem 1. und 4. Tag p.i. nachweisbar (Tabelle 2d). Keine Maus zeigte in dieser Gruppe deutliche Allgemeinsymptome. In einem Teil der Mäuse waren nach dem 5. Tag in den Organen einschließlich der Nieren keine Bakterien nachweisbar. Nierenabszesse wurden noch in einigen Mäusen festgestellt.

Tabelle 2a: Keimzahlen im Blut und den Organen in Abhängigkeit von der Infektionsdauer bei einer ID von $2x10^7$

Zeit p.i.	Blut	Milz	Leber	Lunge	Herz	Niere
1h	$2x10^2$	$9x10^5$	$2x10^7$	$2x10^5$	$6x10^4$	$5x10^4$
	$1x10^3$	$2x10^6$	$1x10^7$	$8x10^4$	$7x10^4$	$6x10^4$
6h	$1x10^3$	$2x10^6$	$1x10^7$	$2x10^6$	$9x10^3$	$8x10^4$
	$2x10^2$	$1x10^6$	$6x10^6$	$2x10^5$	$3x10^4$	$6x10^4$
1d	$1x10^3$	$5x10^5$	$4x10^6$	$3x10^6$	$2x10^7$	$7x10^9$
	$3x10^1$	$2x10^5$	$3x10^5$	$3x10^4$	$1x10^6$	$2x10^7$
	$1x10^3$	$2x10^5$	$2x10^6$	$9x10^3$	$3x10^7$	$8x10^6$
2d	$5x10^1$	$7x10^3$	$4x10^6$	$1x10^5$	$5x10^7$	$2x10^8$
	$5x10^2$	$4x10^3$	$6x10^4$	$7x10^3$	$1x10^8$	$1x10^9$
	$3x10^2$	$4x10^5$	$4x10^5$	$6x10^4$	$7x10^8$	$5x10^6$
3d	$1x10^4$	$9x10^5$	$6x10^7$	$2x10^7$	$1x10^7$	$5x10^9$
	$6x10^0$	$5x10^3$	$4x10^4$	$5x10^4$	$2x10^8$	$2x10^9$
	$3x10^0$	$2x10^4$	$5x10^5$	$1x10^4$	$3x10^8$	$8x10^9$
4d	$1x10^0$	$8x10^3$	$1x10^4$	$4x10^4$	$3x10^5$	$1x10^9$

Gesamtzahl der Mäuse: 45
Tot nach 4 d : 31
Überlebende: 0

Tabelle 2b: Keimzahlen im Blut und den Organen in Abhängigkeit von der Infektionsdauer bei einer ID von $4x10^6$

Zeit p.i.	Blut	Milz	Leber	Lunge	Herz	Niere
1h	$1x10^2$	$1x10^6$	$1x10^6$	$4x10^5$	$6x10^4$	$1x10^4$
	$8x10^2$	$3x10^6$	$2x10^7$	$5x10^4$	$1x10^4$	$8x10^4$
6h	$1x10^2$	$8x10^5$	$3x10^7$	$6x10^4$	$7x10^4$	$9x10^4$
	$8x10^1$	$2x10^6$	$1x10^6$	$2x10^5$	$2x10^4$	$4x10^4$
1d	$3x10^2$	$7x10^4$	$5x10^5$	$1x10^4$	$2x10^7$	$2x10^6$
	$9x10^1$	$1x10^4$	$2x10^6$	$2x10^5$	$8x10^4$	$3x10^6$
2d	$3x10^1$	$3x10^3$	$7x10^4$	$1x10^5$	$2x10^7$	$9x10^8$
	$3x10^1$	$2x10^3$	$2x10^4$	$8x10^4$	$9x10^6$	$3x10^7$
3d	$8x10^0$	$2x10^4$	$7x10^4$	$8x10^5$	$5x10^5$	$2x10^9$
	$6x10^0$	$5x10^5$	$1x10^7$	$5x10^6$	$4x10^8$	$4x10^9$
4d	$8x10^2$	$3x10^4$	$2x10^6$	$1x10^3$	$2x10^7$	$3x10^7$
	$9x10^0$	$2x10^3$	$1x10^4$	$3x10^6$	$2x10^5$	$2x10^8$
5d	$8x10^1$	$7x10^4$	$3x10^6$	$2x10^6$	$2x10^8$	$6x10^9$
	$4x10^1$	$1x10^4$	$5x10^4$	$5x10^3$	$4x10^5$	$1x10^9$
7d	$6x10^1$	$3x10^5$	$2x10^6$	$2x10^6$	$1x10^7$	$4x10^9$
	$2x10^1$	$3x10^4$	$6x10^4$	$2x10^6$	$1x10^7$	$2x10^9$
8d	$1x10^2$	$7x10^4$	$9x10^5$	$1x10^6$	$2x10^6$	$3x10^7$

Gesamtzahl der Mäuse: 45
Tot nach 8 d : 28
Überlebende: 0

Tabelle 2c: Keimzahlen im Blut und den Organen in Abhängigkeit von der Infektionsdauer bei einer ID von 8×10^5

Zeit p.i.	Blut	Milz	Leber	Lunge	Herz	Niere
1h	5×10^1	1×10^5	1×10^6	3×10^4	9×10^3	2×10^4
6h	3×10^2	2×10^5	1×10^5	4×10^4	1×10^4	8×10^4
	6×10^1	9×10^5	1×10^6	6×10^4	5×10^3	9×10^3
1d	6×10^2	2×10^5	8×10^5	2×10^4	8×10^3	6×10^6
	9×10^2	5×10^4	6×10^5	7×10^3	2×10^6	1×10^6
2d	2×10^1	6×10^4	3×10^5	5×10^3	4×10^5	1×10^8
	5×10^1	7×10^3	4×10^4	2×10^5	4×10^5	8×10^7
3d	2×10^1	7×10^1	3×10^2	1×10^5	2×10^4	5×10^7
	4×10^1	9×10^3	8×10^4	2×10^6	2×10^6	1×10^9
4d	2×10^2	4×10^4	9×10^5	3×10^4	8×10^4	3×10^9
	1×10^0	1×10^3	6×10^4	1×10^5	2×10^5	8×10^7
5d	4×10^1	6×10^3	5×10^2	6×10^4	7×10^4	1×10^9
	2×10^3	6×10^4	2×10^9	9×10^6	2×10^6	5×10^9
7d	1×10^0	6×10^2	9×10^3	3×10^4	2×10^2	7×10^8
	4×10^3	3×10^6	1×10^7	3×10^7	2×10^7	5×10^9
8d	0	3×10^3	9×10^4	8×10^4	1×10^4	9×10^8
	1×10^1	4×10^1	2×10^5	8×10^4	3×10^4	2×10^9

Gesamtzahl der Mäuse: 45
Tot nach 8 d : 16
Überlebende: 12

Tabelle 2d: Keimzahlen im Blut und den Organen in Abhängigkeit von der Infektionsdauer bei einer ID von $1{,}6 \times 10^5$

Zeit p.i.	Blut	Milz	Leber	Lunge	Herz	Niere
1h	0	2×10^4	3×10^5	1×10^3	8×10^2	7×10^2
	0	7×10^4	2×10^7	3×10^4	1×10^3	1×10^4
6h	0	3×10^4	1×10^4	1×10^3	1×10^3	1×10^4
	7×10^1	2×10^4	9×10^4	1×10^3	5×10^2	2×10^3
1d	2×10^1	3×10^3	8×10^4	6×10^2	1×10^4	8×10^4
	4×10^1	6×10^3	4×10^4	4×10^2	8×10^3	2×10^5
2d	1×10^0	1×10^2	6×10^2	1×10^2	2×10^2	8×10^2
	1×10^0	4×10^2	6×10^3	0	1×10^4	2×10^7
3d	3×10^1	2×10^3	6×10^3	1×10^4	1×10^6	2×10^8
4d	2×10^1	3×10^3	7×10^4	3×10^4	1×10^3	5×10^9
	0	2×10^2	6×10^3	9×10^3	1×10^4	1×10^9
5d	0	1×10^3	0	0	0	0
	0	0	1×10^4	5×10^5	1×10^3	1×10^9
7d	0	0	1×10^2	0	2×10^3	1×10^2
	0	0	0	0	0	0
8d	0	0	0	0	0	0
	5×10^0	0	3×10^2	0	0	8×10^8

Gesamtzahl der Mäuse: 45
Tot nach 8 d: 4
Überlebende: 24

Insgesamt galt, daß bei hohen Keimzahlen allein in den Nieren die Maus nur wenig Allgemeinsymptome zeigte. Hingegen ging eine hohe Keimzahl im Herzen stets mit schweren Symptomen einher. Man kann vermuten, daß neben der Sepsis und ihren Folgen auch die entzündliche Schädigung des Herzens zum Tode der Tiere führte.
Die während der gesamten Versuchsdauer bestimmten maximalen Keimzahlen waren in den einzelnen Organen sehr unterschiedlich (siehe Tabelle 3)

Tabelle 3: Maximale Keimzahlen in den Organen bei einer ID von $2x10^7$

Niere	Herz	Leber	Lunge	Milz	Blut
$7x10^9$	$7x10^8$	$6x10^7$	$2x10^7$	$9x10^5$	$1x10^4$

Ebenso war die Keimzahlentwicklung in den Organen nicht einheitlich. Eine und sechs Stunden p.i. wurden die höchsten Keimzahlen in der Leber bestimmt. Sie hatten ungefähr die Größenordnung der Infektionsdosis. In der Milz, die kleiner ist als die Leber, waren die Keimzahlen etwas geringer. In Lunge, Herz und Nieren waren die anfänglichen Bakterientiter um 1-2 Zehnerpotenzen niedriger als die Infektionsdosis.
Nach 8 Tagen hatten sich die Bakterien in den Nieren deutlich vermehrt und waren zahlreicher als in anderen Organen nachweisbar. In geringerem Maße fand sich auch in Herz und Lungen eine Bakterienvermehrung. In Leber und Milz konnte eine Zunahme der Bakterienzahlen nur selten beobachtet werden.
Um die Keimzahlentwicklung in den einzelnen Organen zu charakterisieren, wurde Tabelle 4 nach folgender Definition erstellt. Eine Bakterienvermehrung wurde in Leber und Milz angenommen, wenn die zwischen dem ersten und achten Tag p.i. bestimmten Keimzahlen größer waren als die Infektionsdosis, in Herz, Lunge und Nieren,

wenn sie größer waren als 10% der Infektionsdosis. Nach dieser Definition war eine Keimvermehrung in Herz und Nieren am häufigsten. Die Keimzahlbestimmung beschränkte sich in den nächsten Versuchen auf diese beiden Organe.

Tabelle 4: Bakterienvermehrung in allen zwischen dem 1.-8. d p.i. untersuchten Organen nach verschiedener ID (Zusammenfassung der Ergebnisse von Versuch 2)

Infektionsdosis	Prozentuale Bakterienvermehrung in Niere	Herz	Lunge	Leber	Milz
$2x10^7$	100%	80%	30%	10%	0%
$4x10^6$	100%	77%	54%	7,7%	0%
$8x10^5$	100%	50%	50%	21,4%	7,1%
$1,6x10^5$	69,2%	7,7%	15%	0%	0%

Keimzahlen in Herz und Nieren in Abhängigkeit von der Infektionsdosis

In Versuch 3 und 4 wurden die Keimzahlen in Herz und Nieren nach Infektion mit unterschiedlichen Infektionsdosen bestimmt. Zusätzlich wurde die Abszessbildung in den Nieren dokumentiert.

In Versuch 3 erhielten sechs Gruppen mit je 20 Mäusen $6x10^6$, $1,5x10^6$, $6x10^5$, $1,5x10^5$, $6x10^4$ und $1,5x10^4$ Bakterien injiziert.

In Versuch 4 betrugen bei drei Gruppen zu je 20 Mäusen die Infektionsdosen $6x10^6$, $1,5x10^6$ und $1,5x10^5$ Bakterien.

Die Versuchsdauer betrug vier bis fünf Tage. Mäuse, die vor Versuchsende starben, wurden möglichst rasch seziert, um die Organe zur Keimbestimmung zu entnehmen. Zusätzlich wurden Gruppen mit je sechs Mäusen pro Infektionsdosis acht Tage lang beobachtet und die Letalität bestimmt.

In Versuch 3 (Versuch 4 führte zu ähnlichen Ergebnissen) wurden in den Nieren folgende Keim- und Abszesszahlen bestimmt:

ID $6x10^6$: Regelmäßig war die Oberfläche beider Nieren von zahlreichen Abszessen durchsetzt. Die Bakterientiter lagen zwischen $6x10^8$ und $8x10^9$.

ID $1,5x10^6$: In 15 Mäusen zeigten beide Nieren, in 4 Mäusen nur eine Niere Abszesse. Die Keimzahlen lagen zwischen $7x10^7$ und $2x10^9$. In einer Maus waren die Nieren abszessfrei und die Keimzahl betrug $5x10^5$.

ID $6x10^5$: In 6 Mäusen hatten beide Nieren, in 8 Mäusen eine Niere Abszesse. Die Keimzahlen lagen zwischen $1x10^7$ und $6x10^9$. In einer Maus ließen sich in den Nieren keine Abszesse nachweisen.

ID $1,5x10^5$: Eine Maus zeigte Abszesse in beiden Nieren, 9 Mäuse in einer Niere. Die Keimzahlen lagen zwischen $4x10^7$ und $2x10^9$. In 10 Mäusen fanden sich keine Nierenabszesse, und in 5 Mäusen ließen sich in den Nieren keine Bakterien nachweisen.

ID $6x10^4$: In keiner Maus fanden sich in beiden Nieren Abszesse, in 3 Mäusen in einer Niere. Die Keimzahlen lagen zwischen $4x10^7$ und $2x10^9$. In 6 Mäusen ließen sich in den Nieren keine Bakterien nachweisen.

ID $1,5x10^4$: Nierenabszesse waren nicht mehr nachzuweisen. In 12 Mäusen wurden in den Nieren keine Bakterien gefunden. In den übrigen Mäusen lagen die Keimzahlen in den Nieren zwischen $1x10^2$ und $1x10^4$.

Im Herzen wurden in Versuch 3 (Versuch 4 führte zu ähnlichen Ergebnissen) folgende Keimzahlen bestimmt:

ID $6x10^6$: In den Herzen aller Mäuse ließen sich Bakterien nachweisen. Die Keimzahlen lagen zwischen $7x10^3$ und $6x10^6$.

ID $1,5x10^6$: In 2 Herzen fanden sich keine Bakterien. Die Keimzahlen der übrigen lagen zwischen $1x10^2$ und $2x10^5$.

ID $6x10^5$: In 4 Herzen wurden keine Bakterien nachgewiesen. Die Keimzahlen in den übrigen Herzen lagen zwischen $1x10^2$ und $2x10^5$.
ID $1,5x10^5$: In 12 Herzen fanden sich keine Bakterien. In den übrigen Herzen waren die Keimzahlen zwischen $1x10^2$ und $7x10^4$.
ID $6x10^4$: In 18 Herzen fanden sich keine Bakterien. In 2 Herzen waren die Keimzahlen $2x10^2$ und $1x10^5$.
ID $1,5x10^4$: Alle Herzen waren bakterienfrei.

Eine Zusammenfassung der Ergebnisse von Versuch 3 und 4 zeigt Tabelle 5. Die Bakterienvermehrung wurde nach der oben genannten Definition errechnet.

Tabelle 5: Bakterienvermehrung in Herz und Nieren, Abszessrate in den Nieren und Letalität in Prozent nach verschiedenen Infektionsdosen (Ergebnisse aus Versuch 3 und 4).

Infektionsdosis	Bakterienvermehrung		Abszess	Letalität nach 8 d
	Niere	Herz	Niere	
$6x10^6$	100%	70%	100%	83%
$1,5x10^6$	100%	35%	95%	67%
$6x10^5$	80%	25%	70%	33%
$1,5x10^5$	60%	15%	50%	11%
$6x10^4$	20%	5%	15%	0%
$1,5x10^4$	10%	0%	0%	0%

Keimzahlen und Abszesse in den Nieren nach unterschiedlicher Infektionsdauer

In Versuch 5 wurden drei Gruppen mit je 50 Mäusen mit folgenden Infektionsdosen infiziert: $6x10^6$, $6x10^5$ und $1,5x10^5$. Je 10 Tiere wurden nach zwölf Stunden, einem, zwei, vier und acht Tagen getötet. Nach Sektion der Tiere wurden die Keim- und Abszesszahlen in den Nieren in üblicher Weise bestimmt.

Bei der höchsten Infektionsdosis ($6x10^6$) war die Keim- und Abszessentwicklung bei allen untersuchten Tieren weitgehend einheitlich.

12 h p.i.: Die Keimzahlen lagen zwischen $1x10^3$ und $5x10^4$. Die Nieren waren makroskopisch unauffällig.

1 d p.i.: Nach einer Vermehrung um ca. zwei Zehnerpotenzen waren die Keimzahlen zwischen $5x10^5$ und $3x10^6$. Die Nieren waren makroskopisch unauffällig.

2 d p.i.: Ein Tier war gestorben. Nach einer weiteren Vermehrung um ca. drei Zehnerpotenzen lagen die Keimzahlen zwischen $2x10^8$ und $2x10^9$. Auf der Oberfläche aller Nieren fanden sich vereinzelte Abszesse.

4 d p.i.: Fünf weitere Tiere waren gestorben. Eine wesentliche Vermehrung der Bakterien war nicht mehr festzustellen. Auf der Oberfläche aller Nieren fanden sich zahlreiche bis stecknadelkopfgroße Abszesse.

8 d p.i.: Nur eine Maus hatte überlebt. Die Keimzahl in den Nieren betrug $9x10^9$.

In Abbildung 2 sind die Ergebnisse graphisch dargestellt.

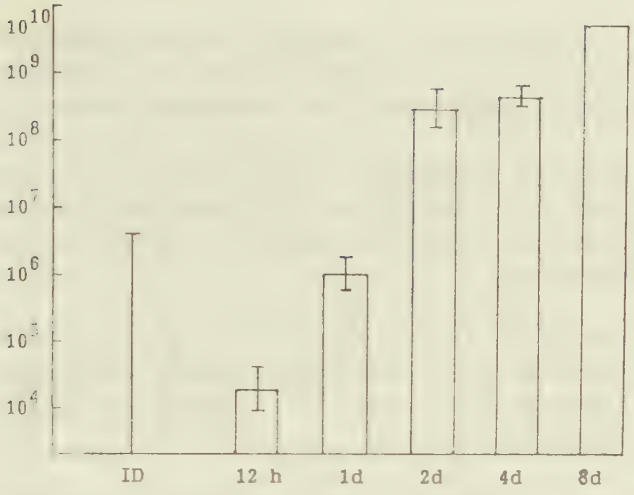


Abbildung 2: Keimzahlen in den Nieren nach unterschiedlicher Infektionsdauer bei einer ID von $6x10^6$ (Mittelwert mit Standardabweichung).

Bei einer ID von $6x10^5$ zeigten die Keimzahlen eine große Streuung, und eine Bakterienvermehrung in den Nieren wurde nicht regelmäßig beobachtet.

12 h p.i.: Die Keimzahlen lagen zwischen $1x10^2$ und $1x10^4$. Makroskopisch unauffällige Nieren.

1 d p.i.: Bei einem Teil der Mäuse war es zu einer deutlichen Vermehrung der Bakterien gekommen. Die Keimzahlen lagen zwischen $3x10^2$ und $4x10^6$. Makroskopisch unauffällige Nieren.

2 d p.i.: Nach einer weiteren Bakterienvermehrung in einem Teil der Nieren lagen die Keimzahlen zwischen $3x10^4$ und $5x10^8$. In fünf Mäusen zeigten die Nieren vereinzelte Abszesse.

4 d p.i.: Die Keimzahlen lagen etwa unverändert zwischen $1x10^3$ und $5x10^8$. In acht Mäusen zeigten eine oder beide Nieren bis zu zehn Abszesse. Zwei Mäuse waren gestorben.

8 d p.i.: Etwa unverändert waren die Keimzahlen zwischen $1x10^2$ und $2x10^8$. Auf der Oberfläche einiger Nieren waren mehr als zehn Abszesse zu finden. Zwei weitere Mäuse waren gestorben.

Bei einer ID von $1,5x10^5$ kam es nur noch in 50% der Tiere zu Nierenabszessen und Bakterienvermehrung. Die maximalen Keimzahlen und Abszesse traten später auf als bei den höheren Infektionsdosen.

12 h p.i.: Die Keimzahlen lagen zwischen $5x10^2$ und $1x10^4$. Makroskopisch unauffällige Nieren.

1 d p.i.: Die Bakterienvermehrung war nur gering, und die Keimzahlen lagen zwischen kleiner als 10^2 (Keimzahlen unter 10^2 waren methodisch bedingt nicht nachweisbar) und $2x10^5$. Makroskopisch unauffällige Nieren.

2 d p.i.: Die Keimzahlen lagen zwischen kleiner als 10^2 und $7x10^7$. In zwei Mäusen zeigten sich an einer Niere vereinzelte Abszesse.

4 d p.i.: In einem Teil der Nieren hatten sich die Bakterien weiter vermehrt. Die Keimzahlen lagen zwischen kleiner als 10^2 und $9x10^8$. Vier Mäuse zeigten an einer Niere vereinzelte Abszesse.

8 d p.i.: Die Keimzahlen lagen zwischen kleiner als 10^2 und $2x10^9$. Eine weitere Zunahme der Abszessbildung war nicht festzustellen.

Bestimmung der Antikörpertiter der Immunseren

Die Titer für das IgG- und das $F(ab)_2$-Serum wurden in gleicher Weise wie folgt bestimmt.
Aus beiden Seren wurde in Röhrchen eine halbwertige Verdünnungsreihe hergestellt. In jedes Röhrchen wurde die gleiche Menge hitzeabgetöteter Staphylokokken hinzugegeben. Die Mischung wurde acht Stunden lang bei $37^{\circ}C$ inkubiert. Danach wurden folgende Agglutionstiter bestimmt.

IgG: 1:20.000
$F(ab)_2$: 1:12.500

Schutzversuche mit einer Infektionsdosis von LD_{50}

Es wurden drei Versuche durchgeführt mit je 230 Versuchstieren (Versuch 6, 7 und 8). Die Infektionsdosen waren so gewählt, daß eine Letalität der Kontrollgruppe von ca. 50% zu erwarten war. Die passive Immunisierung erfolgte mit den unverdünnten Seren und den Verdünnungsstufen 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} und 10^{-5}.

Nach Applikation von unverdünntem Immunserum allein (Substanzkontrollen) zeigten die Mäuse keinerlei Symptome. Die Immunseren hatten somit keine toxische Wirkung. Die Letalität der unbehandelten Tiere (Infektionskontrollen) betrug in Versuch sechs 40%, in Versuch sieben 50% und in Versuch acht 65%.
Eine Übersicht der Ergebnisse gibt Tabelle 6. In Abbildung 3 und 4 sind die Ergebnisse von Versuch 7 zusätzlich grafisch dargestellt.

Überraschenderweise hatte die passive Immunisierung mit unverdünntem $F(ab)_2$-Fragment ($x10^0$) in allen drei Versuchen eine deutlich negative Wirkung, in Versuch 6 erhöhte sich die Letalität auf 90%, in Versuch 7 auf 75% und in Versuch 8 auf 85%. Noch ausgeprägter war die Antischutzwirkung in den ersten Tagen nach Versuchsbeginn. Drei Tage post infectionem zeigten die mit unverdünntem $F(ab)_2$-Serum passiv immunisierten Tiere eine zehnfach höhere Letalität als die Infektionskontrolle (Abbildung 4). Die Gabe von $F(ab)_2x10^{-1}$ zeigte ebenfalls eine negative Wirkung, wenn auch in einem geringeren Umfang.
Eine relative Schutzwirkung wurde durch die passive Immunisierung mit $F(ab)_2x10^{-2}$ beobachtet. Die Letalität betrug in diesen Gruppen 35%, 25% und 35%.

Natives IgG wirkte in keiner Konzentration antiprotektiv. Nach passiver Immunisierung mit dem unverdünnten Serum und den Verdünnungen 10^{-1} und 10^{-2} wurde ein relativer Schutz beobachtet. Die Applikation von $IgGx10^{-1}$ hatte die größte Schutzwirkung und senkte die Letalität auf 15%, 30% und 35%. Die protektive Wirkung von $IgGx10^{-2}$ und unverdünntem IgG war in Versuch 6 und 7 gleich groß in Versuch 8 war $IgGx10^{-2}$ etwas besser wirksam.
Bei beiden Immunseren verhielten sich die Gruppen mit der höchsten Verdünnungsstufe ($x10^{-5}$) wie die unbehandelte Kontrollgruppe.

Hinsichtlich der Nierenabszessrate war nur nach Immunisierung mit $IgGx10^{-1}$ ein siginifikanter Schutz zu beobachten. Die Nierenabszessrate betrug in dieser Gruppe 80%, 75% und 75% gegenüber 90%, 90% und 100% der Kontrollgruppe. In allen übrigen Gruppen wurde die Nierenabszessrate nicht oder nur unwesentlich gesenkt.

Tabelle 6: Beeinflussung der Letalität und der Nierenabszessrate durch die Gabe von Immunseren

Immunserum	Letalität			Nierenabszesse		
	Vs.6	Vs.7	Vs.8	Vs.6	Vs.7	Vs.8
Kontrolle	40%	50%	65%	90%	90%	100%
IgG	30%	40%	60%	85%	80%	100%
$x10^{-1}$	15%	30%	35%	80%	75%	75%
$x10^{-2}$	30%	40%	50%	90%	80%	90%
$x10^{-3}$	40%	55%	70%	90%	85%	100%
$x10^{-5}$	40%	50%	70%	90%	95%	100%
$F(ab)_2$	90%	75%	85%	100%	95%	100%
$x10^{-1}$	60%	70%	75%	95%	95%	95%
$x10^{-2}$	35%	25%	35%	95%	90%	80%
$x10^{-3}$	40%	35%	60%	95%	85%	85%
$x10^{-5}$	45%	50%	60%	95%	90%	95%

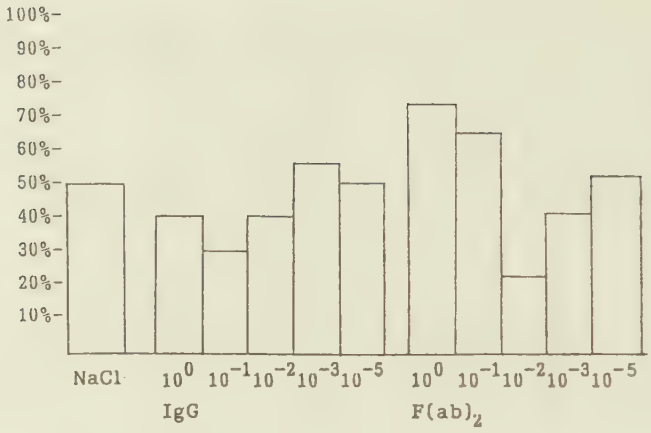


Abbildung 3: Letalität nach 8 d bei der Gabe von nativem IgG und $F(ab)_2$ -Fragmenten nach einer Keimbelastung mit LD_{50} (Versuch 7).

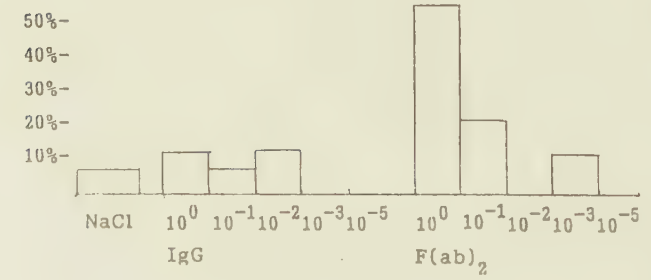


Abbildung 4: Letalität nach 3 d bei der Gabe von nativem IgG und $F(ab)_2$ -Fragmenten nach einer Keimbelastung mit LD_{50} (Versuch 7).

Schutzversuch mit einer Infektionsdosis von LD_{100}

Es wurde ein Versuch (Nr. 9) mit insgesamt 180 Tieren durchgeführt. Die Letalität der Kontrollgruppe betrug 100%. Die passive Immunisierung erfolgte wie in den vorhergehenden Versuchen, außer daß auf die Applikation der Seren in der Verdünnung 10^{-5} verzichtet wurde.

Die Ergebnisse von Versuch 9 sind in Abbildung 5 und 6 grafisch dargestellt.
Natives IgG war wiederum in der Verdünnung 1/10 am besten wirksam und senkte die Letalität nach 8 Tagen auf 50%. Ein geringerer Schutz war auch durch die Applikation von unverdünntem IgG-Serum zu erreichen, und nach 8 Tagen waren in dieser Gruppe 70% der Tiere gestorben. Die übrigen Verdünnungsstufen waren wirkungslos.

$F(ab)_2$-Fragmente in der Verdünnung 10^{-2} hatten ebenfalls eine protektive Wirkung, die aber sowohl nach 3 als auch 8 Tagen geringer als die von $IgGx10^{-1}$ war. Die Letalität in dieser Gruppe betrug nach 8 Tagen 65%.
Die passive Immunisierung mit $F(ab)_2x10^{-1}$ hatte im Gegensatz zu den vorhergehenden Schutzversuchen eine gering e protektive Wirkung und senkte die Letalität auf 85%.
Die Gabe des unverdünnten $F(ab)_2$-Serums hatte wiederum eine negative Wirkung. Bereits 3 Tage post infectionem waren in dieser Gruppe alle Tiere gestorben, während in der Kontrollgruppe noch 30% lebten.

Die Nierenabszessrate wurde in keiner Gruppe signifikant gesenkt.

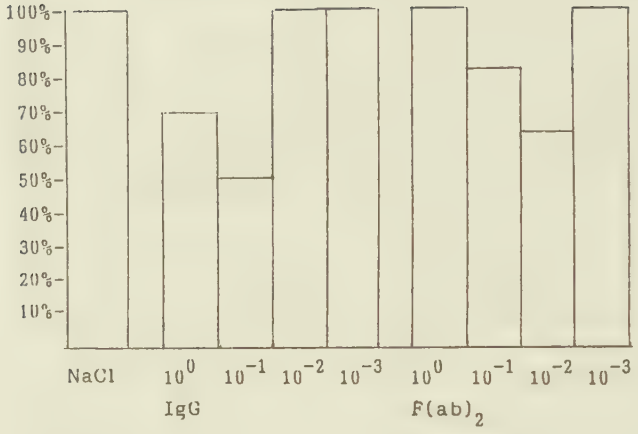


Abbildung 5: Letalität nach 8 d bei der Gabe von nativem IgG und $F(ab)_2$ -Fragmenten nach einer Keimbelastung mit LD_{100} (Versuch 9).

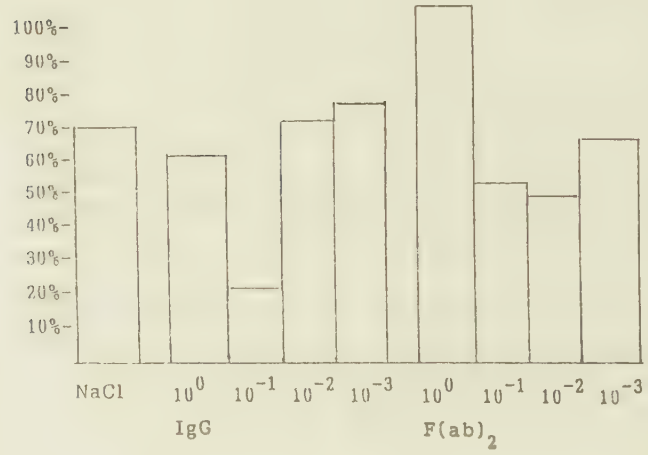


Abbildung 6: Letalität nach 3 d bei der Gabe von nativem IgG und $F(ab)_2$ -Fragmenten nach einer Keimbelastung mit LD_{100} (Versuch 9).

7. DISKUSSION

Im ersten Teil der Arbeit wurde ein Infektionsmodell erstellt. Versuchstier war die weiße Maus, Versuchskeim Staphylococcus aureus, der aus dem Sputum eines Patienten isoliert worden war.
Nach Gorill und McNeil (17) führt die intracerebrale, intraperitoneale und intravenöse Infektion mit Staphylococcus aureus zu einer Allgemeininfektion der Maus. Bei den ersten beiden Infektionswegen sterben die Mäuse bereits innerhalb von zwei Tagen. Nach intravenöser Infektion kommt es bei einem längeren Krankheitsverlauf zu einer Keimabsiedlung in die Organe. Für die Fragestellung der vorliegenden Arbeit war der intravenöse Infektionsweg am geeignetsten.

Zunächst wurde die LD_{50} bestimmt. Sie betrug $6,2 \times 10^5$. Mehrere Autoren haben die Virulenz von Staphylokokken-Stämmen für Mäuse untersucht. Nach D.D. Smith (44) korreliert die Virulenz eines Stammes nicht mit seiner In-vitro-Produktion von Koagulase, alpha-, beta- oder gamma-Haemolysin. Entscheidend ist möglicherweise die Fähigkeit eines Bakteriums, sich in den Organen, vornehmlich Herz und Nieren, zu vermehren. Hasegawa und San Clemente (21) fanden dagegen, daß die LD_{50} von koagulasenegativen Mutanten hundertmal größer war im Vergleich zum koagulasepositiven ursprünglichen Stamm.
J.M. Smith et al. (45) bestimmten die Bakterienzahl in der Gesamtmaus. Nach einer anfänglichen Reduktion konnten sie eine stetige Vermehrung der Bakterien feststellen. Bei einer Bakterienzahl größer als $10^{9,9}$ starben die Mäuse, wobei die eigentliche Todesursache unklar blieb. Die Injektion abgetöteter Staphylokokken-Kulturen, die hohe Toxinkonzentrationen enthielten, führte nicht zum Tod der Mäuse. Gorill (16) nahm als Todesursache eine Kombination von Nierenschädigung und Toxaemie an. Eine Sepsis schloß

er durch Keimbestimmungen im Blut von moribunden Mäusen aus.

In weiteren Versuchen wurden die Keimzahlen im Blut, in Herz, Leber, Lunge, Milz und Nieren bestimmt. Theoretisch kann man nach intravenöser Injektion einer Bakteriensuspension eine gleichmäßige Verteilung der Bakterien im intravasalen Raum annehmen. Aber bereits eine Stunde post infectionem ließen die Keimzahlbestimmungen im Blut und den Organen ein typisches Verteilungsmuster der Bakterien erkennen.
Die meisten Keime wurden in Leber und Milz gefunden, wobei die Bakterienzahlen in der Größenordnung der Infektionsdosis lagen. Es folgten Lunge, Herz und Nieren. Im Blut waren eine und sechs Stunden post infectionem die Bakterienzahlen kleiner als 1% der Infektionsdosis; in der Gruppe mit der kleinsten Infektionsdosis war das Blut bakterienfrei.
Nach anderen Autoren (9, 17) werden die Bakterien durch Zellen des RES, die sich in großer Zahl in Leber und Milz und in geringerer Zahl in der Lunge befinden, aus dem Blut herausgefiltert und teilweise abgetötet.
Gorill (16) hat 30 Minuten post infectionem die Nieren untersucht und fand eine lineare Beziehung zwischen der Infektionsdosis und der Bakterienzahl in den Nieren. Weniger als 1% der Infektionsdosis war eine halbe Stunde p.i. in den Nieren nachzuweisen. Freedman et al. (14) haben bei der Staphylokokken-Infektion der Ratte ähnliche Ergebnisse gefunden.

Im weiteren Infektionsverlauf war die Keimzahlentwicklung in den einzelnen Organen unterschiedlich. Mehrere Autoren (18, 28, 42) haben die Keimzahlentwicklung in den Organen grafisch dargestellt. Nur in den Nieren fand sich regelmäßig eine Vermehrung der Bakterien. In Leber und

Milz kam es nach einem anfänglichen Abfall zu einer Stabilisierung der Bakterienzahlen auf einem niedrigen Niveau. In der Lunge fand sich abhängig vom Bakterienstamm eine Vermehrung oder Reduktion. Das Herz wurde von den zitierten Autoren nicht untersucht.

Gorill (16) beschrieb in einem Bereich zwischen 20% und 80% eine lineare Beziehung zwischen der Infektionsdosis, der Letalität und der Niereninfektionsrate. Entsprechend der LD_{50} wurde eine KID_{50} (kidney infecting dose) berechnet. Eine exakte Definition der Niereninfektion wurde nicht gegeben.

In der vorliegenden Arbeit war die Bakterienvermehrung Kriterium für die Infektion eines Organes. Waren die bestimmten Keimzahlen in Milz und Leber größer als die Infektionsdosis und in Lunge, Herz und Nieren größer als 10% der Infektionsdosis, wurde definitionsgemäß eine Keimvermehrung angenommen. Da eine relevante Vermehrung der Bakterien erfaßt werden sollte, war der Fehler dieser Methode akzeptabel.

Nach dieser Definition war eine Bakterienvermehrung in Niere und Herz am häufigsten, es folgten Lunge, Leber und Milz. Da es keinen Hinweis für einen Organotropismus von Staphylococcus aureus gibt, kann man annehmen, daß die immunologische Abwehr in den einzelnen Organen unterschiedlich wirksam ist. Hierzu sind von mehreren Autoren Überlegungen angestellt worden: Gray et al. (18) wiesen darauf hin, daß in den Nieren keine sessilen Makrophagen vorhanden sind. Bryant et al. (5) zeigten in In-vitro-Versuchen, daß die Phagozytosefähigkeit von Phagozyten bei hoher Osmolarität, wie sie im Nierenmark besteht, herabgesetzt ist.

In Versuch 3 und 4 wurden die Keimzahlen in Herz und Nieren, die Abszessbildung in den Nieren und die Letalität nach unterschiedlicher Keimbelastung bestimmt. Bei der niedrigsten Infektionsdosis ($1{,}5 \times 10^4$) war die Letalität

null. Nur in 10% der Nieren fand sich eine geringe Bakterienvermehrung, die aber nicht zu makroskopisch sichtbaren Läsionen führte. In keinem Fall ließen sich im Herzen Bakterien nachweisen. Nach einer Erhöhung der Infektionsdosis um das Hundertfache kam es in allen Nieren zur Bakterienvermehrung und in 95% zur Abszessbildung. Hingegen war nur in 35% der Tiere eine Bakterienvermehrung im Herzen festzustellen. Die Letalität betrug 67%. Im Herzen wurden nur vereinzelt Abszesse gefunden.

Die Infektion der Nieren bot sich aufgrund des Gesagten als ein geeignetes Modell an, um die therapeutische Wirkung von Immunglobulinen in einem Organ zu untersuchen. Eine Bakterienvermehrung in den Nieren führte in den meisten Fällen zu makroskopisch leicht erkennbaren Läsionen, nämlich Abszessen.

In Versuch 5 und 6 wurde der zeitliche Verlauf der Nierenin fektion und der Abszessbildung näher untersucht. Da nicht vorstellbar ist, daß Bakterien, die sich in Abszessen befinden, für therapeutisch zugeführte Immunglobuline erreichbar sind, war von besonderem Interesse, zu welchem Zeitpunkt die Abszessbildung erfolgte.
Bei der höchsten Infektionsdosis ($6x10^6$) hatten sich die Bakterien bereits einen Tag post infectionem um zwei Zehnerpotenzen vermehrt. Abszesse wurden nach weiterer Vermehrung der Bakterien um zwei bis drei Zehnerpotenzen frühestens am zweiten Tag post infectionem gefunden. Eine Reduktion der Infektionsdosis führte zu einem protrahierten Infektionsverlauf. Abszesse traten in geringerer Zahl und zum Teil erst am vierten Tag post infectionem auf. In allen Nieren mit einer Keimzahl größer als 10^7 waren auch Abszesse vorhanden.

Gray et al. (18) haben Mäusenieren nach intravenöser Infektion mit Staphylokokken histologisch untersucht. Einen

Tag post infectionem fanden sie in Rinde und Mark eine mäßige Infiltration durch PMN. Die Bakterien befanden sich zwischen den Tubuli und in größeren Blutgefäßen. Nach zwei Tagen entstanden Tubulusnekrosen. In diesen nekrotischen Herden waren massenhaft Bakterien. Vom vierten Tag an beobachteten sie eine zunehmende Abszessbildung, die am zehnten Tag post infectionem abgeschlossen war.

In den Schutzversuchen wurde die Wirkung einer passiven Immunisierung mit nativem IgG oder $F(ab)_2$-Fragmenten auf die Letalität und die Keimvermehrung in den Nieren nach Infektion der Mäuse mit einer LD_{50} oder LD_{100} geprüft. Parameter für die Keimvermehrung in den Nieren war die Abszessbildung. Folgende Überlegungen bestimmten die Versuchsplanung:

Eine Stunde nach intravenöser Injektion einer Staphylokokken-Suspension läßt sich im Blut der Maus nur noch ein Bruchteil der injizierten Bakterienmenge nachweisen. Eine Wirkung von Immunglobulinen auf Bakterien im intravasalen Raum ist daher nur zu erwarten, wenn die passive Immunisierung vor der Infektion durchgeführt wird.

Nur ein Bruchteil der injizierten Bakterien gelangt in die Nieren. In den ersten 24 Stunden vermehren sich die Bakterien, die sich intravasal und zwischen den Tubuluszellen befinden, um mehrere Zehnerpotenzen. Nach 24 Stunden kommt es zu Gewebsnekrosen und zur Bildung von Abszessen.

Da die Vermehrung der Bakterien im wesentlichen in den ersten 48 Stunden erfolgt, wird auf eine mehrmalige Injektion von Immunglobulin verzichtet.

Der Einfluß der passiven Immunisierung mit nativem IgG oder $F(ab)_2$-Fragmenten in verschiedenen Konzentrationen auf die Überlebensrate bei einer Infektion mit LD_{50} oder LD_{100} ist in Tabelle 7 vereinfacht dargestellt.

Tabelle 7: Einfluß von IgG und $F(ab)_2$ auf die Überlebensrate bei einer Keimbelastung mit LD_{50} oder LD_{100}

Immunserum	Überlebensrate bei einer Keimbelastung mit	
	LD_{50}	LD_{100}
Kontrolle	0	0
$IgGx10^{0}$	+	+
$IgGx10^{-1}$	++	++
$IgGx10^{-2}$	+	0
$IgGx10^{-3}$	0	0
$IgGx10^{-5}$	0	ø
Kontrolle	0	0
$F(ab)_2x10^{0}$	--	—
$F(ab)_2x10^{-1}$	-	+
$F(ab)_2x10^{-2}$	++	+
$F(ab)_2x10^{-3}$	0	0
$F(ab)_2x10^{-5}$	0	ø

++ deutlicher Schutz, + geringer Schutz, 0 keine Beeinflussung, -- deutlicher Antischutz, - geringer Antischutz, ø nicht geprüft

Am auffallendsten ist die Tatsache, daß sich eine übliche Dosis-Wirkungs-Kurve aus den Ergebnissen nicht ableiten läßt. Die beste Schutzwirkung zeigte natives IgG in der Verdünnung 1/10 und $F(ab)_2$-Fragmente in der Verdünnung 1/100. Bei einer Keimbelastung mit LD_{50} unterschieden sich die beiden Seren in ihrer Wirkung nicht wesentlich,

während bei einer Keimbelastung mit LD_{100} natives IgG einen besseren Schutz als $F(ab)_2$-Fragmente vermittelte.

Unverdünntes IgG-Serum war in allen Versuchen weniger wirksam als $IgGx10^{-1}$.
Unverdünntes $F(ab)_2$-Serum hatte in allen Versuchen eine deutlich negative Wirkung, $F(ab)_2$ $x10^{-1}$ im geringeren Maß bei einer Keimbelastung mit LD_{50}. Da eine Toxizität des Immunserums nicht nachweisbar war, kann angenommen werden, daß es zu einer dosisabhängigen negativen Wechselwirkung zwischen den $F(ab)_2$-Fragmenten und der körpereigenen Abwehr gekommen war. Hinweise hierfür ergeben sich aus In-vitro-Versuchen anderer Autoren.

Eibl und Friers (12) wiesen eine kompetitive Hemmung der Opsonisierung von E.coli durch humanes Serum nach Voriinkubation mit pepsingespaltenem Gammaglobulin nach.
Nach Kuramochi und Kato (24) wird die Reaktion von Lymphozyten auf Stimulation durch Mitogene durch niedrige Konzentrationen von $F(ab)_2$-Fragment gesteigert, durch höhere Konzentrationen jedoch deutlich vermindert.
Nach Tympner et al. (51) wird die Phagozytoseleistung menschlicher Granulozyten durch natives IgG gesteigert, während $F(ab)_2$-Fragmente einen deutlich negativen Effekt haben.
MacLennan (29) fand, daß die zytotoxische Reaktion von Lymphozyten gegen eine Fremdzelle gehemmt wird, wenn IgG-Komplexe oder $F(ab)_2$-Fragmente an diese gebunden sind. Abhängig vom quantitativen Verhältnis von Antigen zu Antikörper werden zytotoxische Reaktionen, die durch zytotoxische B-Zellen, T-Lymphozyten, Makrophagen oder Komplement vermittelt werden, durch Antikörper entweder gehemmt oder gefördert.
Nach den Darlegungen MacLennans könnte ein ungünstiges quantitatives Verhältnis von Antigen zu Antikörper die geringere bzw. antiprotektive Wirkung der unverdünnten Immunseren im Vergleich zu den Seren mit verdünntem

Antikörpertiter erklären. Zusätzlich ist vorstellbar, daß IgG-Komplexe, besonders bei Applikation des unverdünnten Serums, durch kompetitive Hemmung die antibakterielle Schutzwirkung beeinträchtigten.

Während die hier durchgeführten Versuche nur eine relative Schutzwirkung der Immunseren erkennen ließen, konnten andere Autoren bei der Sepsis mit gramnegativen Erregern durch die passive Immuntherapie einen vollständigen oder nahezu vollständigen Schutz erreichen, so Ax et al. (1) bei der E. coli-Infektion der Maus durch natives IgG und $F(ab)_2$-Fragmente und Haranaka et al. (20) bei der Pseudomonas-Sepsis der Maus durch $F(ab)_2$ -Fragmente. Davis (7) erreichte einen vollständigen Schutz bei der Pseudomonas-Infektion der Maus durch Gabe von Humanglobulin mit niedrigem Anti-Pseudomonas-Titer (z.B. 1/16). Greismann et al. (19) stellten eine synergistische Wirkung von Antibiotika und heterologem Hyperimmunserum bei der Infektion der Maus mit grammnegativen Erregern fest.

Über Schutzversuche bei der Staphylokokken-Infektion der Maus werden zum Teil widersprüchliche Ergebnisse berichtet. Nach Fisher und Manning (13) senkt die subcutane Gabe von humanem Gammaglobulin die Letalität bei der Staphylokokken-Infektion der Maus. Die protektive Wirkung konnte durch Adsorption des Serums mit dem homologen Bakterienstamm aufgehoben werden. Nach Lambert (25) hingegen war humanes Gammaglobulin bei der Staphylokokken-Infektion wirkungslos.

Eckstedt (10) beobachtete, daß Mäuse nach Immunisierung mit hitzeabgetöteten Staphylokokken gegen eine Infektion mit dem homologen Bakterienstamm geschützt waren. Ebenso hatte die passive Immunisierung mit einem Anti-Staphylokokken-Hyperimmunserum einen Schutzeffekt. In einer späteren Arbeit (55) wurde das Hyperimmunserum analysiert. Dabei konnte der Antikörper, der spezifisch für das wichtigste Staphylokokkenantigen war, in der IgM-

Fraktion lokalisiert werden. Nach Adsorption des Immunserums mit Anti-IgG blieb die protektive Wirkung im Tierversuch erhalten. Für die Schutzwirkung war nicht IgG, sondern IgM verantwortlich.
Tata und Werner (48) konnten weder mit chemisch modifiziertem Humanglobulin noch mit $F(ab)_2$-Fragmenten die Letalität bei der Staphylokokkensepsis der Maus senken. Bei der Infektion mit einer subletalen Dosis war die Keimzahl der gepoolten Milzen eines Mäusekollektivs, das mit chemisch modifiziertem Immunglobulin behandelt worden war, geringer gegenüber einer unbehandelten Kontrollgruppe. $F(ab)_2$-Fragmente zeigten eine Schutzwirkung nur in den ersten zwölf Stunden nach Einsetzen der Infektion.

Der geringere Erfolg der passiven Immuntherapie bei der Staphylokokken-Infektion im Vergleich zur Infektion mit gramnegativen Erregern läßt sich möglicherweise mit der Tatsache erklären, daß Staphylokokken in besonderer Weise gegen Antikörper geschützt sind. So fand Shayegani (43), daß Anti-Staphylokokken-Hyperimmunserum die Phagozytose von Staphylokokken durch PMN und Makrophagen nicht steigert. Antibakterielle Antikörper scheinen bei der Phagozytose von Staphylokokken im Vergleich zu anderen Bakterien nur eine geringe Rolle zu spielen.
Mehrere Autoren haben die Wirkung von Protein A, das ein Bestandteil der Zellwand von Staphylokokken ist, auf immunologische Abwehrfaktoren untersucht. Nach Rosenblatt et al. (38) hat Protein A eine starke Bindungsfähigkeit für das Fc-Stück des IgG-Moleküls und hemmt die Anlagerung von Antikörper-Bakterien-Komplexen an die Fc-Rezeptoren von Effektorzellen. Komplexe von IgG und Protein A können das Komplementsystem aktivieren und die immunologische Abwehr durch eine Verringerung der Komplementkonzentration schwächen.
Peterson et al. (34) stellten fest, daß Protein A die Opsonisierung hemmte, wenn IgG im Serum vorhanden war,

während es in Abwesenheit von IgG zu einer Steigerung der Opsonisation führte.

Die Abszessbildung in den Nieren war Parameter für die organspezifische Schutzwirkung der verabreichten Immunseren. Durch die Applikation von nativem IgG in der Verdünnung 1/10 konnte die Nierenabszessrate bei einer Keimbelastung mit LD_{50} gering gesenkt werden. Passive Immunisierung mit anderen Titern oder mit $F(ab)_2$-Fragmenten hatte keine signifikante Wirkung. Nach Infektion mit einer LD_{100} hatte die passive Immunisierung in allen Gruppen keinen Einfluß auf die Nierenabszessrate.

Die Organverteilung intravenös zugeführter Antikörper wurde von mehreren Autoren untersucht.
Vollerthun et al. (52) haben bei der Maus nach intravenöser Injektion $F(ab)_2$-Fragmente im Zytoplasma von Zellen verschiedener Gewebe, zum Beispiel auch der Niere, nachgewiesen. Natives IgG war hauptsächlich vaskulär oder perivaskulär im Interstitium darstellbar. Eine quantitative Bestimmung erfolgte nicht.
Ring et al. (37) bestimmten beim Hund die Konzentration von Standardgammaglobulin und $F(ab)_2$-Fragmenten u.a. in den Nieren. Nach 24 Stunden war die Konzentration beider Präparate in den Nieren um ungefähr 50% geringer als im Serum.
Seifert et al. (41) konnten 24 Stunden nach intravenöser Injektion eine Organanreicherung von azyliertem Gammaglobulin, jedoch nicht von $F(ab)_2$-Fragmenten nachweisen.
Bauer et al. (3) untersuchten nach intravenöser Applikation von nativem IgG und $F(ab)_2$-Fragmenten beim Menschen die Dickdarmschleimhaut. Beide Immunglobuline ließen sich weder in der Schleimhaut noch intrazellulär darstellen.

Es bleibt zu fragen, ob in das Gewebe diffundierte Antikörper dort im selben Maß wie im Serum antibakteriell wirksam sind.

Ax et al. (1) untersuchten die Förderung der Phagozytose durch IgG und $F(ab)_2$-Fragmente mit und ohne Beteiligung von Komplement. Sie fanden, daß die Phagozytose von E. coli durch Makrophagen im serumfreien Milieu durch $F(ab)_2$-Fragmente nicht signifikant gesteigert wird. Eine Steigerung der Phagozytose durch $F(ab)_2$-Fragmente erfolge nur indirekt über die Aktivierung des Komplementsystems. Natives IgG zeigte auch in Abwesenheit von Komplement eine geringe Phagozytoseförderung, die durch Zugabe von Serum deutlich gesteigert wurde.
Trautmann et al. (49) konnten eine Schutzwirkung durch IgG bei der Pseudomonas-Sepsis der Maus nur nach intravenöser Applikation der Bakterien nachweisen. Bei Tieren, die intraperitoneal infiziert wurden, waren sowohl intraperitoneal als auch intravenös verabreichte Antikörper wirkungslos. Als Ursache diskutierten sie die fehlende Komplementaktivierung im Peritoneum.

Nach dem oben Gesagten ließe sich die geringe bzw. fehlende Schutzwirkung der Immunseren in den Nieren durch die extravasal fehlende Möglichkeit der Komplementaktivierung erklären. Es bleibt offen, inwieweit zusätzlich die im Vergleich zum Serum in den Nieren geringere Konzentration der Antikörper eine Rolle spielt.

8. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde die protektive Wirkung der passiven Immunisierung mit nativem IgG und $F(ab)_2$-Fragmenten bei der Staphylokokken-Infektion der Maus untersucht. Beurteilungskriterien waren die Letalität und die Nierenabszessrate.

Hinsichtlich der Letalität konnte mit beiden Immunseren eine relative Schutzwirkung erreicht werden. Auffallenderweise hatte die passive Immunisierung mit $F(ab)_2$-Fragmenten in hohen Titern eine deutlich negative Wirkung. Als Ursache hierfür wurde eine konzentrationsabhängige kompetitive Hemmung der körpereigenen Abwehr diskutiert.

Eine geringe Schutzwirkung für die Nieren wurde nur nach passiver Immunisierung mit nativem IgG beobachtet. Dieses Ergebnis bestätigt die Auffassung, daß Antikörper in ihrer antibakteriellen Wirksamkeit von anderen Blutbestandteilen, wie Komplement und polymorphkernigen Granulozyten abhängig sind.

9. LITERATURVERZEICHNIS

1. Ax, W., E.-J. Goronzi, B. Seiler, F.R.: Beeinflussung von in vitro Phagozytose und in vivo Bakterienelimination durch Immunserum, IgG und den verschiedenen daraus hergestellten IgG-Fragmenten. Verh. Dtsch. Ges. Innere Med. 84 (1978) 1325-1331
2. Barandun, S., F. Skvaril, A. Morell: Prophylaxe und Therapie mit Gamma-Globulin. Schweiz. med. Wschr. 106 (1976) 533-542, 580-586
3. Bauer, H.W., J. Bertling, W. Romen: In vivo-Studie zur Wirksamkeit der i.v. Immunglobulin-Therapie. Fortschr. Med. 97, 10 (1979) 475-478
4. Behring, E.v., S. Kitasato: Über das Zustandekommen der Diphtherie-Immunität und der Tetanus-Immunität bei Tieren. Dtsch. med. Wschr. 49 (1890) 1113-1114
5. Bryant, R.E., M.C. Sutcliffe, Z.A. McGee: Effect of osmolalities comparable to those of the renal medulla on the function of polymorphonuclear leukocytes. J. Infect. Dis. 126, No. 1 (1972) 1-10
6. Butterworth, A.E., R.F. Sturrock, V. Houba, A.A.F. Mahmoud, A. Sher, P.H. Rees: Eosinophils as mediators of antibody dependent damage to schistosomula in vitro. Nature 256 (1975) 727-740
7. Davis S.D.: Efficacy of modified human immune serum in the treatment of experimental murine infections with seven immunotypes of Pseudomonas aeruginosa. J. Infect. Dis. 134 Nr. 6 (1975) 717-721
8. Duswald, K.-H., K. Müller, G. Mrosek, J. Ring, J. Seifert: Zur Frage der Wirksamkeit von i.v. Gammaglobulin gegen bakterielle Infektionen chirurgischer Patienten. Biotest-Mitteilungen 37 (1979) 56-68

9. Dutton, A.A.C.: The influence of the route of injection on lethal infections in mice. Brit. J. Exper. Path. 36 (1955) 128-136
10. Eckstedt, R.D.: Studies on immunity to staphylococcal infection in mice. J. Infect. Dis. 116 (1967) 514-522
11. Eibl, M., G. Friers: Hemmung der Opsonisierung von E. coli durch enzymatisch gespaltene Gammaglobuline. Wien. klin. Wochenschr. 90,20 (1978) 717-721
12. Eibl, M., G. Weippl, G. Harasek, F. Unger, Ch. Sitko: Bakterielle Meningitis und Defekte der humoralen Immunität. Dtsch. med. Wschr. 99 (1974) 2635-2640
13. Fisher, M.W., M.C. Manning: Studies on the immunotherapy of bacterial infections. J. Immunol. 81 (1958) 29-31
14. Freedman, L.R., A.S. Werner, D. Beck, S. Paplanus: Experimental pyelonephritis. IX. The bacteriological course and morphological consequences of staphylococcal pyelonephritis in the rat, with consideration of the specificity of the pathological changes observed. Yale J. Biol. Med. 34 (1961/61) 40-51
15. Gierhake, F.W.: Immunglobuline in der operativen Medizin. Immun. Infekt. 9 (1981) 162-169
16. Gorill, R.H.: The establishment of staphylococcal abscesses in the mouse kidney. Brit. J. Exp. Path. 39 (1958) 203-212
17. —, E.M. McNeil: Staphylococcal infection in the mouse. The effect of route of injection. Brit. J. Exp. Path 44 (1963) 404-415
18. Gray, J.E., J.R. Wilkins, M.C. Prestrud, C.D. Nikitas: Further characterization of an experimental staphylococcal infection in mice. J. Infect. Dis. 101 (1957) 137-147
19. Greisman, S.E., J.B. DuBuy, C.L. Woodward: Experimental gram-negative bacterial sepsis. Prevention of mortality not preventable by antibiotics alone. Infect. Immun. 25 (1979) 538-557

20. Haranaka, K., K. Sugane, K. Mashimo: Combination therapy of anti-endotoxin antibody and gentamycin in the immunosuppressed mice with Pseudomonas aeruginosa infection. Japan. J. Exp. Med. 45,3 (1975) 207-213

21. Hasegawa, N., C.L. San Clemente: Virulence and immunity of Staphylococcus aureus BB and certain deficient mutants. Infect. Immun. 22,2 (1978) 473-479

22. Horwitz, M.A.: Phagocytosis of microorganisms. Rev. Infect. Dis. 4,1 (1982) 104-123

23. Jawetz, E., J.L. Melnick, E.A. Adelberg: Medizinische Mikrobiologie. Springer Verlag (1977) 465

24. Kuramochi, T., K. Kato: Influences of the immunglobulin preparation for intravenous application (Gamma-Venin) on cell-mediated immune response. Jap. J. Transplant. 13,2 (1978) 1-16

25. Lambert, H.P.: Gamma globulin in experimental staphylococcal infections. J. Lab. Clin. Med. 56,5 (1960) 701-710

26. Lindquist, L., C. Jarstrand, P. Lindbergh: Granulocytic function after administration of pepsin treated human gammaglobulin. Infection 6,6 (1978),248-251

27. Manz, R.: Das Verhalten der Gammaglobuline bei septischen Patienten einer Intensivpflegestation. Anaesthesist 24 (1975) 322-324

28. McCune, R.M., P.A.P. Dineen, J.C. Batten: The effect of antimicrobal drugs on the experimental staphylococcal infection in mice. Ann. New York Acad. Sc. 65 (1956) 91-101

29. MacLennan I.C.M.: Antibody in the induction of lymphocyte cytotoxicity. Transplant. Rev. 13 (1972) 67-90

30. Menzel, J., H. Jungfer, D. Gemsa: Contribution of Immunglobulins M and G, Complement, and Properdin to the intracellular killing of Escherichia coli by polymorphonuclear leukocytes. Infect. Immun. 19,2 (1978) 659-666

31. Mietens, C.: Therapeutische Anwendung von Gammaglobulinpräparaten bei angeborenen Immunmangelzuständen. Immun. Infect. 9 (1981) 170-174
32. Perlman, P., H. Perlman, H.J. Müller-Eberhard: Cytolytic lymphocytic cells with complement receptor in human blood. Induction of cytolysis by IgG antibody but not by target cell-bound C3. J. Exp. Med. 141 (1975) 287-296
33. Ovary, Z., P.H. Saluk, L. Quijada, M.E. Lamm: Biologic activities of rabbit Immunglobulin G in relation to domains of the Fc region. J. Immun. 116,5 (1976) 1265-1271
34. Peterson, P.K., J. Verhoef, L.D. Sabath, P.G. Quie: Extracellular and bacterial factors influencing staphylococcal phagocytosis and killing by human polymorphonuclear leukocytes. Infect. Immun. 14 (1976) 496-501
35. Raff, M.C.: Role of thymus-derived lymphocytes in the secondary humoral immune response in mice. Nature 226 (1970) 1257-1261
36. Riesen, W.: Struktur und biologische Eigenschaften von Immunglobulinen und Gamma-Globulin-Präparaten. Schweiz. med. Wschr. 110 (1980) 74-79
37. Ring, J., K.H. Duswald, P.A. Bachmann, J. von Scheel, W. Stephan, W. Brendel: Elimination and organ distribution of intravenously administered allogeneic and xenogeneic IgG modifications (Standard IgG $F(ab)_2$-fragments and ß-propiolactone treated IgG) in dogs. Res. Exp. Med. (1978) 209-218
38. Rosenblatt, J., P.M. Zeltzer, J. Portaro, R.C. Seeger: Inhibition of antibody-dependet cellular cytotoxicity by Protein A from Staphylococcus aureus. J. Immunol. 118,3 (1977) 981-985
39. Schade, G.: Einsatz von Gamma-Venin bei Bronchopneumonien. Die gelben Hefte 15 (1975) 79-81

40. Schuhmacher, K.: Immunologische Aspekte bei der Behandlung von septischen Krankheitszuständen. Intensivmed. 16 (1979) 135-140

41. Seifert, J., K.H. Duswald, P. Bachmann, J. Ring, W. Stephan, W. Brendel: Organverteilung und Elimination von Gammaglobulinen verschiedener Herstellung beim Hund. In: Spiess, H. (Hrsg.): Immunglobuline in Prophylaxe und Therapie. Tagungsbericht der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten. Grünes Kreuz Marburg (1977) 35-38

42. Sellers, T.F., C.A. LeMaistre: Experimental staphylococcal infection in mice: Observations on the effects of inoculum size, strain variation, Penicillin, and Cortisone. J. Lab. Clin. Med. 55,2 (1960) 199-215

43. Shayegani, M.: Failure of immune sera to enhance significantly phagocytosis of Staphylococcus aureus: Nonspecific adsorption of phagozytosis-promoting factors. Infect. Immun. 2 (1970) 742-749

44. Smith, D.D.: Experimental staphylococcal infection in mice. J. Path. Bact. 84 (1962) 359-365

45. Smith, I.M., A.P. Wilson, E.C. Hazard, W.K. Hummer, M.E. Dewey: Death from Staphylococci in mice. J. Infect. Dis. 106/107 (1960) 369-377

46. Steele, E.J., B.L. Reynolds, U. Rother, D. Rowley: The mechanism of complement fixation by rabbit $F(ab)_2$: Bactericidal activity of chelated serum and C4-deficient serum. Immunochemistry 14 (1977) 681-686

47. Stendahl, O., C. Tagesson, K.-E. Magnusson, L. Edebo: Physiochemical consequences of opsonization of Salmonella typhimurium with hyperimmune IgG and complement. Immunology 32 (1977) 11-18

48. Tata, P.S., E. Werner: Tierexperimentelle Untersuchungen zur Frage des passiven Schutzes durch intravenöse Immunglobulinpräparate. Research. Exp. Med.-Zschr. ges. exp. Med. einschl. exp. Chirurg. 164 (1974) 175-184

49. Trautmann, M., O. Brückner, H. Hahn: Schutzwirkung von Pseudomonas-Hyperimmunglobulin und von aktiver Immunisierung bei experimenteller Pseudomonas-Sepsis der Maus. Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. A. 252 (1982) 370-388

50. Tunn, U., P. Brandstäter: Einsatz von Gamma-Venin bei obstruktiver Pyelonephritis. Die gelben Hefte 15 (1975) 122-125

51. Tympner, K.D., G. Klose, G. Janka, B. Liegel: Einfluß intravenös verträglicher Immunglobuline auf die Phagozytoseleistung der Granulozyten in vitro. Münch. med. Wschr. 120 (1978) 251-252

52. Vollerthun, R., H.H. Sedlacek, H. Ronneberger: Gewebeverteilung von nativem und enzymbehandeltem Human-Immunglobulin. Dtsch. med. Wschr. 120 (1977) 684-686

53. Weippl, G.: Therapie der eitrigen Meningitis mit Immunglobulin. Pädiat. Pädol. 12 (1977) 309-312

54. Wright, A.E., S.R. Douglas: An experimental investigation of the role of the blood fluids in connection with Phagocytosis. Proc. Roy. Soc. 72 (1903) 357

55. Yoshida, K., R.D. Eckstedt: Antibody response to Staphylococcus aureus in rabbits: Sequence of immunglobulin synthesis and its correlation with passive protection in mice. J. Bacteriol, 96,5 (1968) 1540-1545

56. Young, L.S., D. Armstrong: Human immunity to Pseudomonas aeruginosa. In vitro interaction of bacteria polymorphonuclear leukocytes, and serum factors. J. Infect. Dis. 126 (3) (1972) 257-276

57. Zwisler, O., J. Joachim: Ampicillinresistente Mutanten von Staphylococcus aureus durch Gammaglobulin reduziert. Diagnostik und Intensivtherapie 2 (1978) 11-14

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. Helmut Hahn für die freundliche Überlassung der Arbeit und den Mitarbeitern des Institutes für Medizinische Mikrobiologie der FU-Berlin für ihre hilfreiche Unterstützung.

LEBENSLAUF

16.03.1950	geboren in Bad Wimpfen am Neckar
1956-1960	Grundschule in Gaggenau
1960-1968	Goethe-Gymnasium in Gaggenau
1968	Reifeprüfung
1968-1969	Studium der Chemie und Biologie an der Universität München
1969-1970	Studium der Germanistik an der TU-Berlin
1970-1977	Studium der Humanmedizin an der FU-Berlin
17.08.1977	Staatsexamen
1978-1979	Medizinalassistent
10.07.1979	Approbation
seit 1980	Assistenzarzt an der Radiologischen Abteilung des St. Joseph-Krankenhauses in Berlin

Papyrus-Druck GmbH Berlin ☎ 3416451
Dissertationen